

Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger
École Doctorale de Biotechnologies Végétales
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biotechnologies Végétales
Option : Biotechnologies Végétales

***Utilisation des marqueurs SSRs pour
l'étude de la diversité génétique de
quelques populations algériennes de maïs
(Zea mays L.)***

Par : Aci Miyassa Meriem

Directeur de Thèse : M. KHELIFI L. Professeur ENSA, Alger
Co-Directeur de Thèse : M. REVILLA P. T. HDR, MB-Galicia, Espagne
Soutenu à l'ENSA, le : 29 / 01 / 2012

devant le jury composé de : Président : Mme. MEKLICHE L. Professeur ENSA, Alger
Examineurs : M. ABDELGUERFI A. Professeur ENSA, Alger Mme KHELIFI-SLAOUI M. Professeur
ENSA, Alger

Table des matières

Remerciements . .	5
Dédicace . .	6
Liste des abréviations . .	7
Résumé . .	8
Abstract . .	9
ص—خـلـمـلـا . .	10
INTRODUCTION . .	11
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE . .	13
I Données générales sur le maïs . .	13
1. Présentation générale de la plante . .	13
2. État de la culture du maïs dans le monde . .	19
II Le maïs en Algérie . .	20
1. Distribution du maïs en Algérie . .	20
2. Statistiques de production et surfaces emblavées . .	20
III Diversité génétique chez le maïs . .	21
1. Diversité phylogénétique, intérêts et utilisations . .	21
2. Erosion des ressources phylogénétiques . .	22
3. Conservation des ressources phylogénétiques : les collections . .	22
4. Diversité génétique du maïs dans le monde . .	23
5. Populations locales de maïs et leur diversité . .	23
IV Caractérisation de la variabilité du maïs . .	24
1. Caractérisation phénotypique . .	25
2. Caractérisation moléculaire . .	28
3. Mesure de la diversité génétique . .	34
MATERIEL ET METHODES . .	39
I Rappel de l'objectif du travail . .	39
II Matériel végétal . .	39
III Méthodologies mises en œuvre . .	41
1. Obtention des l'ADN génomiques . .	41
2. Quantification de l'ADN . .	46
3. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR) . .	47
4. Électrophorèse verticale sur gel d'acrylamide . .	50
5. Analyse des données . .	51
RÉSULTATS ET DISCUSSION . .	55
I Résultats . .	55
1. Caractérisation morphologique des accessions de maïs . .	55
2. Obtention de l'ADN génomique . .	61
3. Réaction de polymérisation en chaîne PCR . .	63
4. Electrophorèse . .	63
5. Analyse de la diversité génétique . .	64

II Discussion . .	78
1. Caractérisation morphologique . .	79
2. Caractérisation génétique basée sur les marqueurs SSR . .	80
CONCLUSION . .	87
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES . .	89
<u>ANNEXES</u> . .	100
Annexe 1 . .	100
Annexe 2 . .	102
Annexe 3 Positions chromosomique des 18 marqueurs microsatellites utilisés . .	104
Annexe 4 . .	106

Remerciements

Au terme de ce Magister, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont permis à ce travail de voir le jour.

Ce Mémoire ne serait pas, sans la confiance, la patience et la générosité de mon directeur de thèse, Monsieur Khelifi Lakhder, Professeur à l'École Nationale Supérieure Agronomique (Alger), que je veux particulièrement remercier. Il a donné un deuxième souffle à mes études me permettant d'intégrer l'École Doctorale et je lui en serai éternellement reconnaissante. Je voudrais aussi le remercier pour le temps et la patience qu'il m'a accordés tout au long de ces deux années, d'avoir cru en mes capacités et de m'avoir fourni d'excellentes conditions de travail au sein de son laboratoire. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude et de mes respects les plus profonds pour ses précieux conseils, son aide et sa disponibilité permettant la finalisation de ce modeste travail.

J'adresse mes plus sincères remerciements au Docteur Revilla Pedro, directeur de la Misión Biológica de Galicia (MBG, Pontevedra, Espagne), qui en agissant à titre de co-directeur a fortement aidé à l'aboutissement de ce Mémoire. Ses conseils et ses commentaires m'ont été fort utiles. De plus, j'exprime toute ma gratitude à toute l'équipe mais de la MBG y compris Mr. Revilla et notamment Diaz Raquel et Alonso Ana, pour m'avoir accueilli le temps d'un mois de stage au sein de leur établissement, pour l'hospitalité dont ils ont fait preuve à mon égare et pour m'avoir transmis une partie de leurs précieuse expérience et savoirs concernant le maïs et le domaine de la Biologie Moléculaire.

Je remercie également Djemel Abderrahmen, doctorant à la MBG, sans qui la coopération Espano-Algérienne ne serrait pas. Je lui adresse mes remerciements les plus sincères pour m'avoir accueillie en Espagne et pour sa précieuse aide dans l'avancement de ce modeste travail. Je tiens tout autant à remercier Fairouz, qui m'a accueillie chaleureusement et qui m'a été d'un grand soutien lors de mon séjour en Espagne.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur Morsli du département de Forêt qui m'a permis de réaliser une partie de ce modeste travail au sein de son laboratoire ainsi que Madame Kheira, l'ingénieur de ce laboratoire, pour m'avoir facilité la tâche en me considérant comme une étudiante de ce département à part entière. Je lui suis reconnaissante pour sa confiance et son aimable disponibilité.

Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères aux membres du jury, qui ont accepté d'évaluer ce modeste travail : Mme MEKLIICHE L. Professeur à l'ENSA (Alger) qui me fait l'honneur de présider le jury, Mme KHELIFI-SLAOUI M., Professeur à l'ENSA (Alger) pour la lecture de ce manuscrit et pour ces encouragements et Monsieur ABDELGUERFI A., Professeur à l'ENSA (Alger), tout d'abord pour le temps accordé à la lecture de ce mémoire et ensuite pour ces précieux conseils, ces recommandations et son soutien permanent tout au long de ces deux dernières années. Je le remercie également pour son dévouement pour les étudiants et la passion du pays qu'il a su me transmettre.

Merci aussi à tous mes camarades et amis de l'EDBV (promotion 2009) et ceux du LRGB leur aide me fut précieuse. Je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite beaucoup de bien.

Enfin, une pensée émue pour tous les étudiants avec qui j'ai partagé une salle, un repas ou petit bout de chemin pendant ces deux années passées à l'ENSA.

Dédicace

À vous, Papa et Maman À mes sœurs et à mon frère À toi Hamza

Liste des abréviations

- ACP : Analyse en Composante principale.
- ADN : Acide Désoxyribonucléique.
- AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism.
- CEC : Commission of the European Communities.
- CIMMYT : International Maize and Wheat Improvement Center.
- CSIC: Conseil Supérieur de la Recherche Scientifique (Espagne).
- EMBL: European Molecular Biology Laboratory.
- ENSA : Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- IBPGR: International Board for Plant Genetic Resources.
- ICARDA: International Center for Agricultural Research in Dry Areas.
- ICRISAT: International Centre of Agronomy Research in Dry Area.
- IPGRI: International Plant Genetic Resources Institute.
- LRGB : Laboratoire des Ressources Génétiques et Biotechnologies
- MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- MBG : Misión Biológica de Galicia
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- QTL : Quantitative Trait Loci
- RAPD:Random Amplified Polymorphic DNA
- RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
- SAM: Sélection Assistée par Marqueurs
- SDS: Dodécyl-Sulfate de Sodium
- SNP: Single Nucleotide Polymorphism
- SSR: Simple Sequence Repeat
- TBE :Tris, Borate, EDTA.
- UPGMA: Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages.

Résumé

La présente étude est un premier pas vers la valorisation du germplasm autochtone de maïs (*Zea mays* L.) algérien. L'objectif étant d'évaluer la diversité des populations traditionnelles collectées sur tout le territoire national en vue de constituer une « core collection » représentant la diversité génétique du maïs cultivé en Algérie, notamment dans les différentes régions du Sud. La caractérisation a porté sur plusieurs accessions à savoir 24 accessions au niveau morphologique (utilisation de 3 descripteurs morphologiques qualitatifs : la couleur du grain, le type de grain et la forme de l'épi) et 15 accessions au niveau moléculaire (utilisation de 18 marqueurs microsatellites).

Dans un premier temps, l'évaluation morphologique a permis de constater que 83 % des accessions étudiées possèdent des grains de type lisses, que 75 % d'entre elles ont des épis de forme conique et qu'elles présentent une très grande diversité de couleur du grain (33,3 % jaune, 41,6 % jaune/orange, 25 % en ségrégation et 4,1 % orange). Cependant, les résultats de l'ACP ont montré que les trois descripteurs n'ont été discriminants que pour 50 % des accessions. La classification hiérarchique ascendante des accessions a montré une répartition des accessions sur trois principaux clusters en fonction de leur couleur du grain ou de la forme de l'épi mais aucune répartition en fonction de l'origine géographique n'a été enregistrée.

L'analyse par les marqueurs microsatellites a révélée une diversité génétique relativement élevée pour les 15 accessions étudiées. Cela se traduit par un total de 91 allèles détectés avec un nombre moyen d'allèles par locus (A) s'élevant à 5,687 et une hétérozygotie espérée (H_e) de 0,571. Par ailleurs, la majorité des accessions présente un déficit en hétérozygotes, l'hétérozygotie observée (H_o) (0,402) étant inférieure à celle espérée. Le taux de polymorphisme s'élève à 93% car tous les loci SSR sont polymorphes à l'exception d'un seul, *umc1403*. Les valeurs des F-statistiques ($F_{is} = 0,0045$, $F_{it} = 0,312$ et $F_{st} = 0,309$) ont révélé la structure génétique des 15 accessions, avec un éloignement de la population totale de l'équilibre de Hardy-Weinberg et la différenciation génétique (F_{st}) élevée entre les accessions qui indique que seulement 30,9 % de la diversité totale est expliquée par la diversité inter-population et que 60,1 % de cette diversité est expliquée par la diversité intra-population. Les accessions ayant présenté le plus de diversité génétique sont GOL et LOM contrairement à MGH et KST. Le dendrogramme obtenu par la méthode UPGMA montre trois principaux clusters dont la formation est, globalement en relation avec l'origine géographique des accessions.

Mots clé : Algérie, *Zea mays* L., populations traditionnelles, caractérisation, descripteurs morphologique, ACP, marqueurs microsatellites (SSR), UPGMA, clusters.

Abstract

Use of SSR markers for studying genetic diversity of some Algerian populations of maize (*Zea mays* L.)

This study is a first step towards the enhancement of maize (*Zea mays* L.) germplasm native to Algeria. The aim is to assess the diversity of traditional populations collected throughout the country to constitute a "core collection" representing the genetic diversity of corn grown in Algeria, especially in different parts of the South. The characterization focused on many accessions namely 24 accessions at the morphological level (using 3 qualitative morphological descriptors: the color of grain, grain type and shape of the ear) and 15 accessions at the molecular level (using 18 microsatellites markers).

At first, the morphological evaluation showed that 83% of the studied accessions have smooth type grains, 75% of them have conic ears form and they show a wide diversity of color grain (33.3% yellow, 41.6% yellow / orange, 25% in segregation and 4.1 orange). However, the results of PCA showed that the three descriptors were discriminating only for 50% of the accessions. The ascending hierarchical classification of the accessions showed a distribution of accessions into three principal clusters based on their grain color or shape of their ears, but no distributions based on the geographical origin was recorded.

Analysis by microsatellites markers has revealed a relatively high genetic diversity for the 15 accessions studied. This results in a total of 91 alleles detected with an average number of alleles per locus amounted to 5,687 and expected heterozygosity (H_e) of 0, 571. However, the majority of accessions present an heterozygote deficiency; the observed heterozygosity (H_o) 0, 402 being lower than the expected one. The rate of polymorphism is 93% as always all SSR loci are polymorphic with the exception of one, *umc1403*. The values of the F-Statistics ($F_{is} = 0.0045$, $F_{it} = 0.312$ and $F_{st} = 0.309$) revealed the genetic structure of the 15 accessions with a deviation from Hardy –Weinberg equilibrium of the total population and the high genetic differentiation (F_{st}) between accessions indicating that only 30.9% of the total diversity is explained by inter-population diversity, and 60.1% of the diversity is explained by the intra-population one. Accessions bearing the greatest genetic diversity are GOL and LOM in contrast to MGH and KST. The dendrogram obtained by UPGMA method shows three main clusters whose formation is generally related to the geographical origin of accessions.

Keywords: Algeria, *Zea mays* L., traditional populations, characterization, morphological descriptors, PCA, microsatellites markers (SSR), UPGMA, clusters.

ص-خ-ل-م-ا

استخدام واسمات SSR لدراسة التنوع الوراثي لبعض العشائر التقليدية للذرة الجزائرية (*Zea mays* L.)

تمثل هذه الدراسة خطوة أولى نحو تقييم الموارد الأصلية للذرة بالجزائر. يمثل الهدف في تقدير تنوع العشائر التقليدية المجمعة على سائر التراب الوطني من أجل تأسيس "مجموعة مشتركة" ممثلة للتنوع الوراثي للذرة المزروعة بالجزائر وخاصة بمختلف المناطق الجنوبية. فمنا بوصف عدة مداخل أي 24 مدخل على المستوى الشكلي (إسمال 3 واصفات شكلية تقريبية: لون الذرة، نوع الذرة و شكل السنبله) و15 مدخل على المستوى الجزيئي (إسمال 18 واسمات من نوع ميكروساتلايت (microsatellites)).

سمح التقييم الشكلي في الموحلة الأولى بالتوصل إلى أن 83% من المداخل المدروسة تحوي على حبوب من النوع الملحن، 75% منها لها سنابل على شكل مخروطي بينما أظهرت تنوع جد معتبر في لون الذرة (33.3% أصفر - 41.6% أصفر برتقالي، 25% إنغرازي و 4.1% برتقالي). بينما نتاج ACP أظهرت أن الوصفات الثلاثة لم تكن مميزة إلا لنسبة 50% من المداخل. بين التصنيف الستمي المتصاعد للمداخل تقسيما لهذه الأخرى إلى ثلاث مجموعات رئيسية حسب لون الذرة أو شكل السنبله لكنه لم يتم تسجيل أي تقسيم يوافق الأصل الجغرافي.

أفصح التحليل عبر واسمات ميكروساتلايت (microsatellites) على وجود تنوع وراثي مرتفع نسبيا للمداخل الـ 15 المدروسة. هذا يُفسر بالتوصل على نتائج 91 أليلا مكتشف مع معدل الأليلات في الواسم "A" يرتفع إلى 5.687 وهجونة متنضرة (He) تقدر بـ 0.571. إلى جانب ذلك، لوحظ في أغلبية المداخل نقصا في الهجونة، إذ أن الهجونة الملحوظة (Ho) 0.402 تقل عما هو مرتقب (He). ترتفع نسبة الواسمات المتعددة الصيغة إلى 93% علما أن كل المواقع الجينية SSR هي ذات صيغ متعددة ما عدى واحد منهم: umc1403. كذلك أضحيت فرم إحصائيات: $F = 0.0045$, $FIT = 0.312$, $FST = 0.309$ البنية الوراثية للمداخل الـ 15 مبينة إبتداء العشيرة الكلية من نوازن Hardy-Weinberg وكذا التمازج الوراثي (FST) العالي بين المداخل الذي يشير إلى أن نسبة 30.9% فقط من التنوع الكلي تم تفسيرها بتنوع العشائر فيما بينها، في حين تم تفسير نسبة 60.1% من هذا التنوع باختلاف الأفراد داخل العشيرات. إن المدخلين GOL و LOM هما الأكثر تنوعا على النطاق الوراثي عكس MGH و KST ويشير مخطط تفرع الخلايا المنحصر عليه عبر منهج UPGMA إلى وجود ثلاثة مجموعات رئيسية يكون تشكيلها مرتبطا عامة بالأصل الجغرافي للمدخل.

الكلمات المفتاحية: الجزائر - *Zea mays* L. - العشائر التقليدية، التوصيف - الوصفات الشكلية - ACP - واسمات ميكروساتلايت (SSR) - UPGMA - مجموعات.

INTRODUCTION

L'Algérie est réputée pour sa richesse en ressources phytogénétiques grâce à sa situation géographique et à sa diversité pédoclimatique. Ces ressources sont importantes aussi bien pour l'économie du pays que pour le maintien de l'équilibre écologique au sein de ses différentes régions. Le potentiel génétique important (réservoir de gènes d'adaptation exceptionnelle) est soumis de manière permanente à un processus d'érosion qui risque d'atteindre des niveaux irréversibles, si les autorités compétentes du pays tardent encore à mettre en œuvre les moyens de conservation adéquats pour la sauvegarde et la protection de notre patrimoine génétique.

Sous prétexte que c'est une espèce exigeante en eau, le maïs n'occupe qu'une place marginale dans l'agriculture algérienne malgré les besoins sans cesse croissants en cette céréale. Ces besoins sont comblés à quasi 100% par le recours à l'importation qui atteint des proportions démesurées aussi bien en volume importés qu'en devises engagées pour satisfaire nos besoins (**Timesguida et Oulounis, 1998**).

Contre toute attente, il existe un germplasma autochtone de maïs adapté à des zones sans doute déficitaires en eau. Ce germplasma est représenté par des populations locales situées en grande partie dans le sud du pays en l'occurrence au niveau des Oasis sahariennes (**Rahel-Bouziane et Feliachi, 2006**). Ces populations pourraient receler une diversité génétique extraordinaire vu l'étendue géographique des zones où elles sont cultivées dans le Sud Algérien. Cette diversité serait le fruit d'un long processus d'adaptations et de diversification pendant plusieurs siècles conduisant à la sélection de traits spécifiques répondant à la fois aux besoins des populations autochtones qu'aux conditions drastiques du milieu.

Toutefois, cette ressource est menacée d'extinction (**Djemel et al. , 2011**) et la principale cause de cette érosion génétique serait l'introduction de variétés destinées à l'alimentation de l'Homme et du bétail et qui peuvent se retrouver cultivées dans les oasis où sont cultivées de très anciennes populations. Il est donc urgent de collecter, préserver, caractériser et valoriser le germplasma local de maïs, dans l'espoir de redonner à cette spéculation la place qu'elle mérite dans l'agriculture algérienne. Un regain d'intérêt vient, heureusement, d'être accordé à la culture du maïs à travers le MADR pour développer dans les années à venir cette culture stratégique pour le pays (www.transactiond'algerie.com).

L'évaluation de la diversité du maïs cultivé au fil des siècles dans tous les pays, y compris l'Algérie constitue une étape incontournable pour la conservation, la gestion et la valorisation du germplasma existant (**Liu et al. , 2009**). A cet effet, le présent travail s'inscrit dans le cadre d'un projet en collaboration avec la Misión Biológica de Galicia (MBG, Pontevedra, Espagne), affiliée au Conseil Supérieur de la Recherche Scientifique (CSIC). L'objectif général immédiat assigné à ce projet est de construire une idée générale sur le degré de diversité du maïs cultivés dans les oasis du sud algérien. L'objectif à moyen et plus long terme serait de constituer une « core collection » ou collection nucléaire puis le lancement de programmes d'amélioration et/ou de création variétale.

La présente étude vise à :

· Caractériser 24 accessions de maïs traditionnelles à l'aide de :

- trois descripteurs morphologiques qualitatifs : couleurs du grain, type de grain et forme de l'épi
 - 18 marqueurs microsatellites (SSRs) choisis uniformément sur l'ensemble des 10 chromosomes du maïs.
- Analyser la diversité intra et inter-accession ainsi que la structure génétique des 15 accessions.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I Données générales sur le maïs

1. Présentation générale de la plante

1.1. Centre d'origine et de domestication

Le maïs est le symbole de la culture du continent américain. Ce lien entre agriculture et culture motiva les scientifiques ainsi que les humanistes à se poser des questions quant à l'origine de cette céréale et la manière avec laquelle elle a évolué tout au long de sa domestication (**Serratos-Hernandez, 2009**).

Le centre d'origine d'une plante cultivée donnée a été définie par Vavilov (1887-1943) comme étant la zone géographique où la plus grande partie de la diversité de cette culture se localise et où ses ancêtres coexistent ou ont coexisté. Ainsi, Vavilov a situé le centre d'origine et de domestication du maïs en Amérique centrale, plus exactement au sud du Mexique (**Serratos-Hernandez, 2009**) dans une région appelée Balsas River Valley (**Figure 1**).

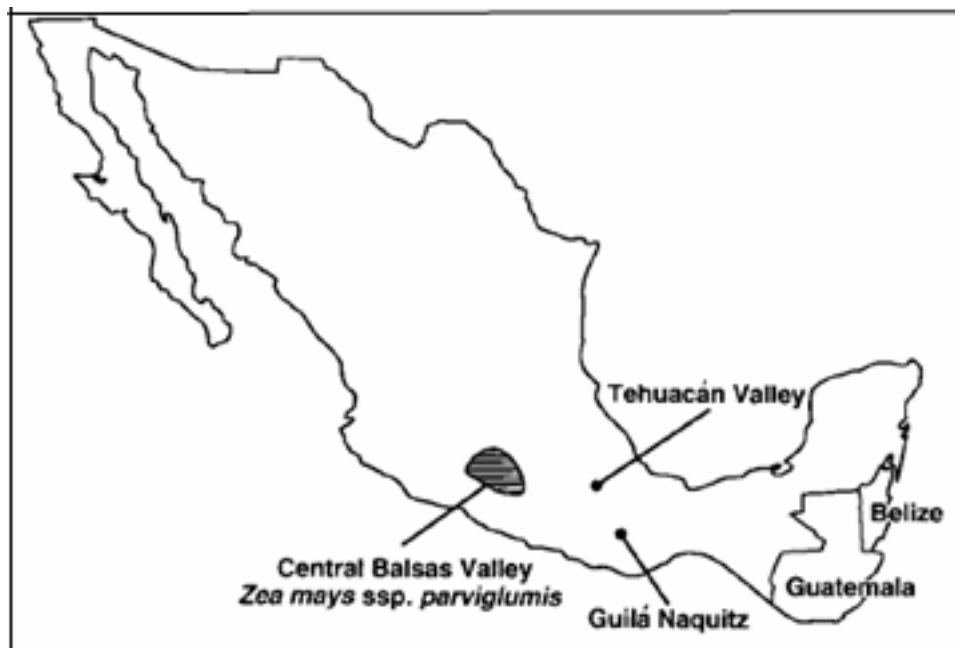


Figure 1: Localisation de la région de Balsas Valley (tache noire) sur la carte géographique du Mexique

(Piperno et Flannery, 2001).

A partir de son centre d'origine, la culture s'est étendue sur l'Amérique centrale (1500-1400 av. J.-C.), puis gagna l'Amérique du Sud (1300-1100 av. J.-C.) et l'Amérique du

Nord (450 av. J.-C.) constituant ainsi le fondement de l'alimentation et de l'économie des civilisations précolombiennes (Inca, Aztèque et Maya) (**Jourcin, 1964 in Fare, 2004**).

Vers la fin du 15^{ème} siècle après la découverte des Amériques par Christophe Colomb, le maïs fut introduit en Europe via l'Espagne (**Weatherwax et Randolph, 1955**).

Au début du 16^{ème} siècle, le maïs fut adopté en Espagne et au Portugal, puis il s'étendit d'une part vers le sud-ouest de la France et d'autre part vers l'Italie. Les Turcs contribuèrent à son expansion à l'Est et les marchands portugais l'introduisirent en Afrique au début du 16^{ème} siècle. Vers la même époque cette céréale pénétra l'Asie : Inde, Chine, Birmanie, Corée, Japon (**Razafimbelo, 1995 in Fare, 2004**)

Certains spécialistes pensent que le maïs est apparu dans le continent américain à partir d'un maïs sauvage aujourd'hui disparu (**figure 2**) et qui serait différent des voisins du maïs notamment *Euchlaena* ou *Tripsacum* (**Mangelsdorf et Reeves, 1939 in OECD, 2003 et Galinat, 1965**)



Figure 2: Représentation de l'évolution du maïs selon la théorie de Mangelsdorf où X : *Manisuris* ; Z : maïs sauvage ; XZ : *Tripsacum* ; Z(XZ) : Téosinte ; Z(ZXZ) : maïs actuel (Galinat et al., 1964 in Galinat, 1965)

Cependant, les résultats de nombreuses études botaniques, cytologiques et génétiques ont apporté l'évidence que tous les types de maïs cultivés aujourd'hui ont une seule origine commune : le téosinte. Cette hypothèse est, jusqu'à présent, la plus largement acceptée (**Iltis et Doebley, 1980; Doebley, 1990; Matsuoka et al., 2002; Doebley et Stec, 1991 in OECD, 2003; Beadle, 1939 in Doebley, 2004; Serratos-Hernandez, 2009**).

Chronologie des évènements

Les évènements suivants tracent l'histoire des découvertes en rapport avec l'étroite relation entre le maïs et le Téosinte :

1570 : premier signalement de l'existence de la Téosinte par le botaniste et physicien espagnole Francisco Hernandez Boncalo (1515/1517-1578).

1748 : l'imminent botaniste Linnae classifia le maïs au sein du genre *Zea*.

1833 : premiers travaux de taxonomie du téosinte entrepris par le botaniste Schrader, qui la classifia au sein du genre *Euchlaena* sp. *Euchlaena mexicana*.

1875 : reconsidération de la taxonomie du téosinte par le botaniste Ascherson considérant l'appartenance du genre *Euchlaena* au genre *Zea* et émergence de la Théorie du Téosinte ayant attiré sur le fait que le maïs fut domestiqué à partir du téosinte par la sélection humaine, mais l'existence d'une différence morphologique très prononcée entre les épis des deux plantes, à savoir le maïs et le téosinte, aurait été difficile, pour ces scientifiques à interpréter par un simple argument se basant sur le processus de domestication ou d'évolution (**Beadle, 1978 in Doebley, 2004**).

1919 : Collins a démontré que des hybrides résultants de croisements entre le maïs et certaines formes (variétés) de téosinte étaient totalement fertiles (**Collins, 1919, in Doebley 2004**).

1932 : la preuve cytologique des résultats de Collins fut apportée par les résultats de l'étude de Beadle confirmés ensuite par **Longley (1941)** et **Kato (1976) in Doebley (2004)**. Ces derniers, ont observé une similarité cytologique entre les chromosomes d'une forme de téosinte annuel Mexicain, appelé présentement *Zea mays* ssp. *Mexicana*, et ceux du maïs après de multiples analyses morphologiques des chromosomes des deux plantes. D'autre part, les crossing-over entre les chromosomes du maïs et de cette forme de téosinte se déroulaient à des fréquences similaires à celles observées pour des hybrides de deux variétés de maïs (**Emerson et Beadle, 1932**). De plus, les hybrides émanants de ce croisement, une fois croisés avec du maïs, présentaient un appariement complet des chromosomes ainsi qu'une totale fertilité.

1972 : Beadle conclua que le maïs et le téosinte annuel Mexicain étaient des membres de la même espèce (**Beadle 1939, in Doebley 2004**).

1984 : **Doebley et al.** ont analysé le polymorphisme isozymique du maïs et du téosinte. Les résultats ont permis, d'une part, la confirmation des données cytologiques en comparant les fréquences alléliques du maïs et de plusieurs téosintes et ont apporté d'un autre côté, des détails supplémentaires. En effet, les fréquences alléliques de *Zea mays* ssp. *mexicana* étaient très proches de celles du maïs mais toutes fois différentes de celles de ce dernier. Néanmoins, les fréquences alléliques d'un autre téosinte annuel Mexicain *Zea mays* ssp. *parviglumis* ou téosinte de Balsas étaient essentiellement analogues à celles du maïs, ce qui plaça ce nouveau téosinte au rend du parent sauvage le plus proche du maïs.

Dans les années 1990, la mise à la disposition des chercheurs d'outils plus convaincants que des données morphologiques et cytologiques tels que les marqueurs moléculaires, a révolutionné le monde de la recherche scientifique.

2002 : une étude phylogénétique entre maïs et téosintes des Amériques à l'aide des microsatellites, a confirmé les données apportées par les isozymes : la grande diversité de maïs que nous connaissons actuellement provient d'une seule et unique domestication et

qui est celle du téosinte de Balsas : *Zea mays* ssp. *parviglumis* ; cet évènement s'est produit il y environ 9000 ans (Matsuoka et al. , 2002).

1.2. Considérations botaniques

Étymologiquement parlant, le nom maïs dérive probablement du mot « Mahiz » ou « Marisi » mots indiens utilisés en Amérique pour décrire une plante. En revanche, le nom *Zea* dérive d'un ancien nom Grec *zea* qui signifie céréale ou graine (Desjardins et McCarthy, 2004 ; Australian Government, 2008). Linné donna le nom scientifique *Zea mays* en 1737.

Le maïs, *Zea mays* L.ssp. *mays* (Iltis), est une monocotylée annuelle appartenant à la tribu des *Andropogoneae* de la sous-famille des *Panicoideae* de la famille des *Poaceae* (OECD, 2003 et USDA, 2005).

Le maïs appartient donc à :

Famille : *Poaceae*

Sous-famille : *Panicoideae*

Tribu : *Andropogoneae*

Genre : *Zea*

Actuellement, le genre *Zea* comprend cinq espèces réparties sur deux sections : *Zea* et *Luxuriantes*. *Zea mays* ssp. *mays* est la seule espèce du genre à être cultivée et qui, par ailleurs, détient une place importante dans l'économie mondiale.

Le maïs est une espèce diploïde avec un nombre de chromosome de $2n = 2x = 20$; la taille de son génome est d'environ 2400 Mb (Cai, 2006). Les deux sections du genre *Zea* englobent plusieurs espèces et sous espèces (tableau 1).

Section ZEA

Zea mays L. (maize)

Zea mays subsp. *mays* (L.) Iltis (maize, $2n = 2x = 20$)

Zea mays subsp. *mexicana* (Schrader) Iltis (téosinte, $2n = 20$)

Zea mays subsp. *parviglumis* Iltis and Doebley (téosinte, $2n = 20$), var. *parviglumis* Iltis and Doebley (=race Balsas)

Zea mays subsp. *huehuetenangensis* Doebley (= race Huehuetenango)

Section LUXURIANTES

Zea diploperennis Iltis, Doebley and Guzman (téosinte pérenne, $2n = 20$)

Zea luxurians (Durieu) Bird (téosinte, $2n = 20$)

Zea nicaraguensis ($2n = 20?$)

Zea perennis (Hitchc.) Reeves and Mangelsdorf ($2n = 2x = 40$)

Tableau1 : Sections du genre *Zea*, leurs différentes espèces et sous espèces ainsi que leurs nombres chromosomiques

(Doebley et Iltis, 1980 ; Iltis et Doebley, 1980 ; Iltis et Benz, 2000 in OECD, 2003].

Appartiennent, également, à la tribu des *Andropogoneae* d'autres genres : le genre *Tripsacum*, qui contient 16 espèces et qui, comme le genre *Zea*, se retrouve dans l'hémisphère Ouest. En face, les genres Asiatiques s'étendent sur une surface partant de l'Inde à l'Asie du Sud-est et des îles Polynésiennes jusqu'en Australie. Ils comptent le genre *Coix* ($2n = 10, 20$), *Polytoca* ($2n = 20$), *Chionachne* ($2n = 20$), *Schlerachne* ($2n = 20$) et *Trilobachne* ($2n = 20$). (Watson et Dallwitz, 1992 in India Government, 2011).

1.3. Description morphologique

Le maïs est une herbacée annuelle monoïque dont la hauteur de la plante varie entre 1 et 4 m. Il possède une tige souvent unique. Ses graines sont portées par une inflorescence (l'épi) protégée par des spathes ce qui empêche leur dissémination. C'est une caractéristique qui le distingue des autres céréales (**figure 3**) (Australian Government, 2008).

Le système racinaire est de type fasciculé et adventif. Les racines sont superficielles, elles ne dépassent pas les 50 cm de profondeur. Les racines d'ancrage sont des racines adventives qui prennent naissance au niveau des nœuds de la base de la tige et qui soutiennent essentiellement la plante (Hubert, 1978 et Fare, 2004).

Contrairement aux autres *Poaceae*, le maïs ne talle pas en générale, ceci dit, rien n'empêche l'apparition, de temps à autres, de tiges secondaires de taille moyenne à la base de la tige principale. La tige souvent unique est dressée, ronde (3 à 6 cm de diamètre) et remplie d'une moelle sucrée. Elle est composée de nœuds et d'entrenœuds. Ces derniers sont courts à la base et tendent à s'allonger vers le sommet (Hubert, 1978 et Fare, 2004).

Les feuilles, typiques des *Poaceae*, sont réparties de façon alterne et opposée. Au nombre de 10 à 15 par plant, elles ont une gaine enserrant la tige au niveau des nœuds et un limbe en forme de ruban plat, long de 50 à 80 cm et large de 5 à 10 cm portant des nervures parallèles (Hubert, 1978 et Fare, 2004).

Les fleurs sont des épillets regroupés sur des inflorescences mâles (la panicule) et femelle (l'épi), disposées séparément sur le même pied. La panicule culmine au sommet du plant et possède de nombreuses ramifications le long desquelles les épillets se groupent par deux. Chaque épillet contient deux fleurs mâles ayant chacune trois étamines et un ovaire rudimentaire. La floraison mâle est acropète et a lieu avant la floraison femelle : l'émission de pollen a lieu 2 à 3 jours après l'épanouissement de la panicule et avant que les stigmates (soies) de l'inflorescence femelle ne soient réceptifs (Fare, 2004 et Australian Government, 2008).

Les épis apparaissent à l'aisselle des feuilles médianes. Sur un seul plant peuvent se développer jusqu'à quatre épis mais, généralement, seul un atteindra un développement total. L'épi mesure 10 à 30 cm de long et est contenu dans 5 à 20 spathes. Il est constitué d'un axe central (rachis ou rafle) où se fixent les épillets suivant un alignement vertical. L'épillet est composé de deux fleurs parmi lesquelles seule la supérieure est fertile, et d'un ovaire à un ovule. L'ovaire est surmonté par un style filiforme qui peut atteindre 20 cm de long qui se termine par un stigmate bifide appelé soie. La soie émerge au sommet de l'épi et reçoit le pollen sur toute sa longueur. Sur un épi, on peut compter 8 à 20 rangées de 16 à 40 graines (Fare, 2004).

Le fruit est un caryopse de couleur, de forme, de dimension et de texture variables d'un cultivar à un autre (Hubert, 1978). Il est formé, principalement, de trois parties : le tégument (enveloppe d'épaisseurs et de couleurs diverses), l'albumen (composé, essentiellement d'amidon) et l'embryon. Ce dernier est constitué d'une tigelle, d'un coléoptile, qui protégera

le développement de la tigelle en perçant la croûte du sol, et d'une racicule protégée par le coléorhize (**Fare, 2004**).

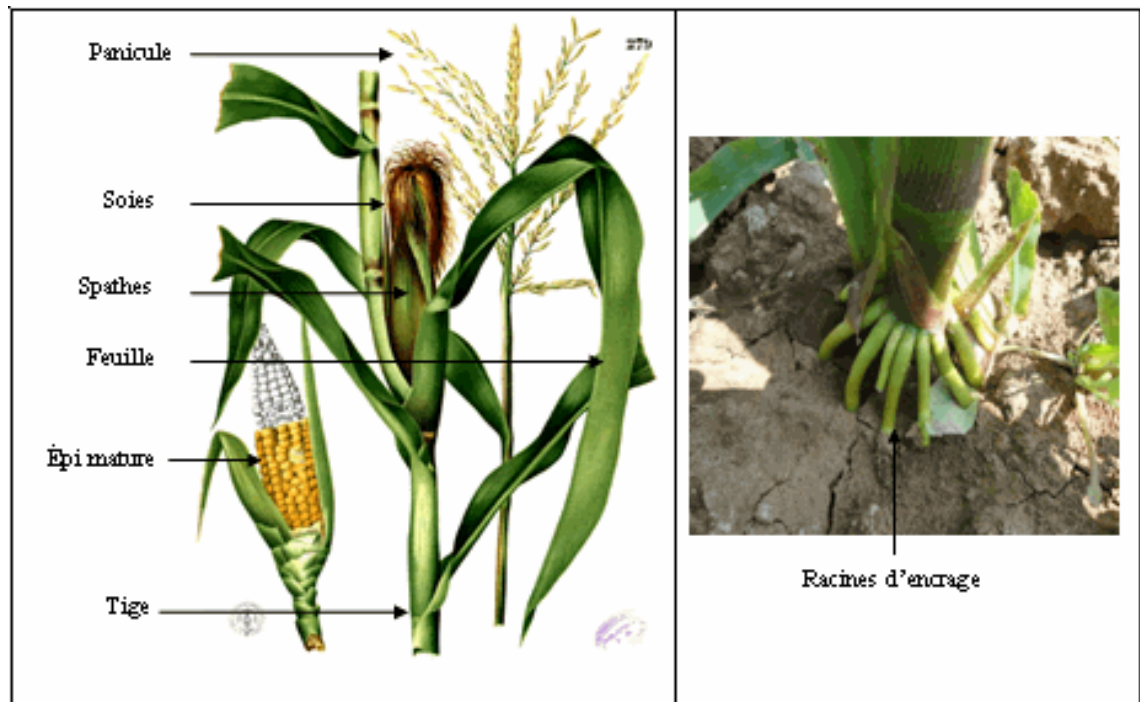


Figure 1: Morphologie d'un plant de maïs

(<http://lepotager-demesreves.fr/Boutique/>)

1.4. Cycle végétatif du maïs

Selon les variétés et les conditions du milieu, **Hubert (1978)** et **Touchard (2006)**, rapportent que le cycle complet du maïs se déroule sur une période allant de 100 à 180 jours et divisée en cinq phases :

- La phase de germination et de levée

Elle dure cinq à dix jours aux cours desquels la plantule se développe : la racicule apparaît en premier, suivie de la tigelle. Des racines séminales (système racinaire provisoire) se développent à partir de la racicule. Le premier entrenœud se forme (mésocotyle), s'allonge et pousse le coléoptile hors du sol. Le coléoptile se déchire faisant apparaître deux feuilles embryonnaires.

- Phase de croissance

Elle s'étend de la levée jusqu'à l'apparition de la panicule. Les principaux événements de cette phase se résument en l'apparition des vraies feuilles et des racines permanentes. Ces dernières proviennent des premiers entrenœuds. Vers la fin de cette phase, apparaissent sur les entrenœuds de la base de la tige les racines adventives.

- Phase de floraison

La panicule s'ébauche avant la fin de la croissance, vers 4 à 5 semaines après le semis et met 2 à 3 semaines pour terminer son développement. L'initiation de l'épi a lieu une

semaine environ après celle de la panicule. Les soies, quant à elles, sont réceptives dès leur émergence des spathes.

- Phase de fécondation

Le maïs est une plante allogame. La fécondation est croisée à 95%. Après, la fécondation, les soies brunissent et se dessèchent et la panicule également.

- Phase de maturation

Après la fécondation, le grain se remplit d'une substance riche en sucre, parallèlement à la transformation de ces sucres en amidon et amylopectine. Le grain perd de l'humidité et à maturité physiologique il contient 8 à 35% d'humidité selon les conditions environnementales.

1.5. Répartition géographique du maïs dans le monde

Le maïs est une culture versatile qui pousse sur des zones agro-climatiques contrastées. De plus, sa capacité à s'adapter aussi convenablement à des environnements aussi différents les uns que les autres n'a été observée chez aucune autre espèce. Cette faculté se reflète sur la grande diversité morphologique et physiologique que présente le maïs. En effet, il est cultivé entre 58° Nord (Canada et Russie) et 40° Sud (Chili). Le maïs tropical pousse entre 30° Nord et 30° Sud, le subtropical entre 30° et 34° Nord ou Sud et le tempéré au-delà de 34° de latitude Nord et Sud. Par ailleurs, cette céréale est cultivée sur une altitude partant du niveau de la mer jusqu'à plus de 3800 m (**Australian Government, 2008**). Par conséquent, le maïs peut être cultivé sur une ère dont la pluviométrie varie de 250 mm à plus de 5000 mm par an (**Dowswell et al. , 1996 in India Government, 2011**).

1.6. Utilisations

Aujourd'hui, si le maïs reste la base de l'alimentation humaine dans certains pays d'Amérique Latine, d'Afrique et d'Asie, l'alimentation animale, dans les pays industrialisés tels que les États-Unis d'Amérique, le Canada et l'Union Européenne, constitue la principale utilisation du maïs (**Galinat, 1988 in Doebley, 2004 et Morris, 1998 in India Government**). Il est utilisé sous différentes formes : en grains pour la volaille et les porcs, sous forme de fourrage pour les bovins et enfin comme matière première dans les chaînes des industries de l'amidonnerie, de la fermentation et de l'huilerie (**Bassaler, 2000**).

2. État de la culture du maïs dans le monde

Le maïs est, après le blé et le riz, l'une des céréales les plus cultivée et les plus productives aux monde avec un rendement moyen de plus de 4 tonnes par hectare (**Paliwal, 2000 et Farnham et al. , 2003 in Australian Government, 2008**).

En 2009, la culture du maïs occupait la deuxième place après la canne à sucre sur l'échelle mondial de la production avec plus de 818 millions de tonnes (MT) (**FAOstat, 2011**). En tête des producteurs, avec presque 41% de la production mondiale, soit plus de 330 MT, arrivent les États-Unis d'Amérique, suivies d'autres producteurs majeurs comme : la Chine avec 164 MT, le Brésil avec un total de 51 MT et le Mexique avec ses 20 MT.

La superficie occupée par cette culture dans le monde a atteint 160 millions d'hectares, en 2009, localisés en grande partie dans l'hémisphère Nord (**FAOstat, 2011**).

II Le maïs en Algérie

De nos jours, rien de précis sur l'origine de la culture du maïs en Algérie n'est connu. Cependant, il semblerait que cette culture y aurait été introduite d'Espagne (par les pèlerins Arabes qui traversaient l'Afrique du Nord pour se rendre à la Mecque et les Maures : nom donné à certains guerriers, d'origine Perse et Arménienne, venus d'Espagne qui se sont mêlés aux populations autochtones berbères du Maghreb actuel. Ils se sont installés dans les montagnes au Maroc, dans les Aurès en Algérie et en Lybie (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Maures>) et **Laumont (1950)**. En effet, la culture du maïs serait ancienne en Afrique du Nord, au Sahara et au Soudan et remonterait au 16^{ème} siècle (**Chevalier, 1932 in Laumont, 1950**). Par ailleurs, selon **Laumont (1950)**, **Duval (1856)** signala que le maïs était cultivé en Kabylie, dans le tell et les Oasis Sahariennes.

1. Distribution du maïs en Algérie

La grande diversité climatique qui divise le pays en plusieurs zones agro-climatiques fait que la culture du maïs se retrouve cantonnée dans les périmètres irrigués ainsi que dans certaines plaines du littoral à bonne pluviométrie. D'après **Benzeghou (1976)**, la culture du maïs, en 1975, était répartie, d'Est en Ouest, sur les régions suivantes : Annaba, Guelma Skikda, Jijel Alger, Blida (la Mitidja), Médéa, El Asnam (périmètre du Chéelif) et Tlemcen. Le reste était réparti entre les autres wilayas du pays et ne représentait, souvent, que les surfaces utilisées pour la réalisation de brise vent dans les parcelles de maraîchage.

2. Statistiques de production et surfaces emblavées

La culture du maïs en Algérie est quasi inexistante et marginalisée car considérée comme trop exigeante et demandant une très grande attention (**Saïdani, 1977**) ; alors que l'élevage avicole en est extrêmement dépendant. Par conséquent, les besoins croissants en maïs sont essentiellement comblés par de massives importations, chose qui classe l'Algérie parmi les plus grands importateurs de maïs en Afrique (**CMA/AOC, 2005**).

La période coloniale allant de 1854 à 1878 fut marquée, d'une part, par l'introduction de variétés de maïs françaises et espagnoles et d'autre part, par un élargissement considérable et rapide des plantations de maïs partant de 5076 ha à 33075 ha respectivement. Par la suite, une nette régression fut enregistrée et la culture fut progressivement abandonnée (**Laumont, 1950**). Après l'indépendance, de 1961 à 1989, la surface occupée par la culture du maïs a chuté de 6000 ha à 1000 ha et à partir des années 90, cette culture a fait l'objet d'un désintéressement total et les surfaces emblavées en maïs ont alors chuté à 450 ha. En 2009, une surface minuscule de 168 ha lui fut consacrée pour un rendement total de 34,226 quintaux par hectare (q/ha) (**tableau 2**) (**FAOstat, 2011**).

Années	surface (Ha)	Rendement (q/Ha)	Production totale (tonnes)	Semences (tonnes)
1961	5837	9,746	5689	200
1971	6210	8,135	5052	221
1981	2270	10,030	2277	73
1989	1000	24,000	2400	5
1990	140	16,500	231	10
1991	260	19,230	500	11
1994	410	45,12	185	10
1997	120	21,416	257	7
2000	430	36,186	1556	16
2003	340	28,852	981	8
2009	168	34,226	575	6

Tableau 2: Évolution des superficies, du rendement et de la production du maïs en Algérie

(FAOstat, 2011)

III Diversité génétique chez le maïs

La diversité génétique est le résultat d'un double brassage des gènes lors de la reproduction sexuée, au moment de la formation des gamètes, et au moment de la fécondation. Cette double loterie au sein de l'espèce fait que chaque individu soit unique (**AFSSA, 2005**).

1. Diversité phylogénétique, intérêts et utilisations

Il est commun de considérer les végétaux comme étant des ressources naturelles « phytoressources », spécialement pour leur composante inter-spécifique : abondante diversité des espèces sauvages ou cultivées. Cela se justifie du fait de l'importance économique et/ou médicale dérivants de ces organismes vivants, d'une part, et de la valeur esthétique, culturelle et patrimoniale attribuée à certaines espèces ou variétés d'autre part. Cependant, l'influence de cette diversité spécifique au sein du monde végétal n'est pas claire. Tandis que la composante intraspécifique, ou « diversité génétique », serait à l'origine de la différenciation des populations d'une même espèce, permettant à chaque population de s'adapter à son environnement (**Godelle et al ., 1998**).

Le polymorphisme génétique, est à l'origine de la diversité génétique. C'est un terme qui fait référence à la variabilité qu'elle soit de forme, de taille, de structure ou de composition et dont l'utilisation touche pratiquement tout les domaines de la science. Ce terme exprime aussi les variations fréquentes se déroulant au niveau d'un locus spécifique du génome (**Hopkinson et Withehouse, 2000**).

Les ressources phylogénétiques, avec l'eau et le sol, sont, partout dans le monde, le fondement de l'agriculture et de la sécurité alimentaires : c'est la matière première qu'emploient les sélectionneurs de plantes et les spécialistes de la biotechnologie pour produire de nouvelles variétés adaptées à différents environnements et conditions de croissance. Sans cette diversité, nous ne pourrions plus adapter les cultures à l'évolution constante des besoins et des conditions (**Lazrek-Ben Friha, 2008**).

Pour chaque espèce cultivée, il existe un ou plusieurs centres primaires de diversité *in-situ* ; le flux génétique ininterrompu entre ces cultures et leurs parents sauvages dans ces régions est une source inépuisable de nouvelles variabilités (**Bautista-Salas, 2009**). Toutefois, les centres secondaires ne sont pas négligeables, notamment pour certaines espèces comme le maïs qui, en plus d'être originaire d'Amérique centrale, a une source secondaire importante de diversité en Afrique où un bon nombre de types distincts ont été sélectionnés (**FAO, 1996**).

La FAO (1996), dans son rapport sur l'état des ressources phytogénétiques dans le monde a déclaré que l'alimentation et l'agriculture de chaque pays dans le monde sont et seront interdépendantes en matière de ressources phytogénétiques et cela quelque soit la grandeur de cette diversité dans les banques de gènes ou dans les exploitations agricoles.

2. Erosion des ressources phytogénétiques

Depuis un bon nombre d'années déjà, le monde est témoin de l'enclenchement du processus d'érosion des ressources phytogénétiques et un appauvrissement non négligeable et préoccupant a été remarqué. Bautista-Salas (2009) précise que : « le processus d'érosion se poursuit et la perte irréversible d'allèles est catastrophique car il s'agit de l'unité fondamentale de l'hérédité et la première source de variation de l'aspect, des caractéristique et du comportement des plantes ».

La diversité génétique est « involontairement » victime de l'extension de l'agriculture commerciale moderne dans ce sens où l'introduction de nouvelles variétés de plantes cultivées a provoqué la perte des variétés traditionnelles ancestrales (**Bautista-Salas, 2009**).

Il devient alors nécessaire de rechercher un model de production mettant à profit le potentiel des cultures végétales génétiquement hétérogènes et les savoirs locaux. Les agro-écosystèmes traditionnels sont génétiquement très diversifiés contenant des populations de variétés créoles (landraces) adaptées, lesquelles évoluent face aux maladies et aux ravageurs. Quant aux savoirs locaux, ils font partie de la biodiversité agricole et représentent l'ensemble des connaissances que les personnes d'une communauté donnée ont développé dans le temps et continuent à développer. Ils sont fondés sur l'expérience, souvent testés au cours de nombreux siècles d'utilisation, adaptés à la culture et à l'environnement local, gravés dans les pratiques de la communauté, dynamiques et en évolution permanente et représentent des siècles de travail acharné (**Bautista-Salas, 2009**).

Selon le même auteur, nous savons à présent que de plus en plus de pratiques agricoles de paysans traditionnels, considérées dans le temps comme mauvaises ou primitives se sont révélées être des techniques sophistiquées et adéquates. En cherchant à contourner les difficultés du milieu ces paysans ont mis en place des systèmes originaux qui, malgré eux freinent le processus d'érosion : pour avoir un bon rendement ces paysans favorisent les cultures génétiquement hétérogènes.

3. Conservation des ressources phytogénétiques : les collections

Les banques de gène conservent à long terme les ressources génétiques des plantes cultivées et leurs formes sauvages sous forme de collections. Au cours des 25 dernières

années, certaines collections ont atteint des proportions excessives, ce qui constitue un obstacle à la bonne gestion de ces collections (**Van Hintum et al. , 2000**)

Ayant prévue ces problèmes, Frankel (1984), proposa le concept de «core collection » ou collection nucléaire ; celle-ci pourrait être créée à partir des collections existantes mais serait de plus petite taille et représentative de la diversité génétique de ces dernières.

Par définition, une « core collection » est un échantillon limité d'accessions (populations, variétés, lignées...etc) représentant, avec un minimum de répétition, la diversité génétique d'une espèce cultivée et de ses parents sauvages (**Frankel, 1984 in Hamonl et al. , 1995**). D'après Brown (1989), une « core collection » de 10% d'accessions contient théoriquement 70% des allèles de la collection entière.

En plus de constituer un outil de conservation facilitant le management des banques de gènes, une « core collection » représente une véritable carte d'identité génétique pour une espèce donnée appartenant à une région bien précise, un moyen de caractériser et de connaître le potentiel génétique de ses ressources et d'en faciliter l'utilisation (**Studnicki et al. , 2010**).

4. Diversité génétique du maïs dans le monde

Les données sur la répartition géographique du maïs dans le monde montrent qu'il s'est adapté à un large spectre d'environnements, chose qui se reflète dans la grande diversité des caractères agro-morphologiques, génétiques, cytologiques et physiologiques de cette plante. De plus, la diversité génétique ne dépend pas que de la variation des conditions du milieu environnant, elle est étroitement corrélée aux cultures et traditions des populations indigènes, des systèmes de productions et du type de consommation du maïs (**Aguirre et al. , 1998**).

Pendant la domestication du maïs, au cours des siècles passés, chaque région où il a été introduit et cultivé a donné naissance à ses propres cultivars ou populations locales (**Australian Government, 2008**).

De ce fait le maïs est cultivé partout dans le monde. Par conséquent ses ressources génétiques sont conservées *ex situ* dans plusieurs endroits dans le monde. Toutefois, la conservation *in situ* persiste toujours dans la région Méso-américaines où existe encore la souche originelle du maïs qui a donné naissance à toutes les variétés améliorées cultivées actuellement à travers le monde. C'est dans cette région que se trouve la plus grande partie de la diversité génétique du maïs (**India Government, 2011**).

Dans les pays développés la tendance est à l'adoption de variétés améliorées de maïs à des fins purement commerciales. Certains organismes ont pris conscience de l'importance que représente cette diversité intra-spécifique et de l'ampleur des facteurs mis en jeu si celle-ci venait à s'épuiser ; ils la conservent précieusement pour les améliorations génétiques futures.

Le CIMMYT est le leader en question de conservation de germplasma du maïs, il détient la plus large collection d'accessions de maïs au monde avec plus de 17000 lignées (**CIMMYT, 2000 in India Government, 2011**).

5. Populations locales de maïs et leur diversité

Il n'y a pas lieu de négliger le fait qu'il existe en Algérie un germplasm local de maïs. Il s'agit de populations locales désignées sous des appellations génériques telles que : Kbal, Mastoura ou encore Draa...etc. Celles-ci sont situées en majorité dans les oasis Sahariennes du pays, et qui par conséquent, sont adaptées aux conditions culturelles les plus drastiques (**Timesguida et Oulounis, 1998**).

A priori, il existerait une grande diversité morphologique au sein des populations de maïs cultivées dans le sud algérien. Cela pourrait s'expliquer par une large base génétique et par le fait que ces populations ont fait l'objet de sélection artificielle par les paysans: ces derniers favorisent les cultures génétiquement hétérogènes pour limiter les pertes dues aux facteurs biotiques et/ou abiotiques. Effectivement, la plus part d'entre elles, sont cultivées d'années en années de manière isolée et, très souvent sans échange de semences entre les fermiers. Ces populations présentent, généralement, un cycle de développement très court (45 jours) et se caractérisent, pour la majorité, par de petits épis contenant un nombre très restreint de grains. Le plant quant à lui, il ne dépasse pas les 60 cm de hauteur. Cependant, dans ces régions, la consommation du grain de maïs cultivé de manière traditionnelle, est destinée principalement à l'homme (**Rahel-Bouziane et Feliachi, 2006**).

Récemment, un soudain intérêt est accordé à ces populations. Un revirement de situation dû probablement, à une prise de conscience du gouvernement ainsi que des scientifiques face à l'ampleur de la catastrophe engendrée par la perte massive des ressources phylogénétiques du pays. Ces populations constituent un germplasm qui a subi un grand processus d'adaptation et de diversification pendant plusieurs siècles et sont, par conséquent, un puits de richesse biologique mais qui, ne répondant souvent pas aux besoins agronomique et économiques d'une agriculture moderne, risque de disparaître au détriment de nouvelles variétés introduites.

C'est pourquoi, il est nécessaire de créer des variétés nouvelles ayant les propriétés des formes locales avec, en plus, des possibilités de rendement et de qualités technologiques élevés (**Lazarova et al. , 1988**). Il est admis que tout manque d'informations sur une ressource génétique donnée et/ou sa non valorisation ne peut que conduire à sa disparition (**Raharinirina, 2005**)

De plus, nous savons à présent que le ministère de l'agriculture et du développement rural, dans le cadre de la nouvelle politique destinée à réduire les importations, ambitionne de produire localement une grande part du maïs consommé et que les premiers périmètres agricoles convenant à la production de maïs viennent d'être identifiés dans la région de l'Oranie (www.transactiondalgérie.com).

IV Caractérisation de la variabilité du maïs

Même si dans certains cas où il n'existe pas de variation pour certains caractères essentiels, il existe toujours de nombreux caractères pour lesquels des variations entre individus sont observées. Certaines de ces variations s'expriment au niveau phénotypique (morphologie, physiologie, etc.) alors que d'autres restent cachées et leur mise en évidence nécessite l'utilisation de techniques adaptées (modification biochimiques ou génétiques : variabilité des protéines ou des séquences d'ADN).

Les variations phénotypiques sont dues en partie à des facteurs environnementaux (fertilisation, climat, etc.) et d'autre part à des facteurs héréditaires, transmissibles à

la descendance. De plus, dans la plupart des cas, ces deux sources de variation interagissent fortement (interactions génotype x environnement), et il est difficile de mesurer leur part relative dans la variation phénotypique totale. Les méthodes classiques pour estimer la diversité génétique des populations utilisent les caractères morphologiques et agronomiques, en sachant que ces caractères peuvent être influencés par des facteurs environnementaux. Du point de vue de la valeur agronomique, la variation phénotypique est la plus utile, tandis qu'elle n'est pas très informative concernant la relation entre génotypes. D'un autre côté, les caractérisations biochimiques ou moléculaires ne donnent pas d'informations agronomiques, mais elles éclairent les relations entre les génotypes ainsi que leurs relations phylogénétiques sans interactions avec l'environnement.

Pour caractériser efficacement une collection les deux approches peuvent cependant, être envisagées : l'approche phénotypique et l'approche génotypique.

1. Caractérisation phénotypique

L'expression de la variabilité peut ou non se manifester en caractères visibles, c'est une variabilité phénotypique. Le but ultime de la caractérisation d'une collection est de mesurer la variabilité du groupe étudié en se référant à des caractéristiques ou descripteurs qui soient le plus discriminants possible.

Un descripteur végétal est une caractéristique identifiable et quantifiable d'une espèce. Les descripteurs sont utilisés dans la caractérisation et dans l'évaluation des populations pour faciliter leur différenciation et rendre facile la classification, le stockage, la récupération et l'utilisation des données (**Painting et al. , 1993 in Bautista-Salas, 2009**).

Les descripteurs morpho-agronomiques peuvent être qualitatifs ou quantitatifs et incluent des caractères botaniques et taxonomiques mais aussi d'autres qui n'identifient pas nécessairement l'espèce mais qui sont importants du point de vue agronomique, de l'amélioration génétique, du marché ou du point de vue culinaire. Souvent ces descripteurs sont influencés par les changements environnementaux, mais les descripteurs homologués à niveau international sont normalement des caractères stables avec une haute héritabilité.

De nombreux descripteurs de caractérisation ont été publiés et pour un grand nombre d'espèces végétales comme le blé (**IBPGR et CEC, 1985**), le sorgho et le millet (**IBPGR et ICRISAT, 1993¹, 1993²**), l'orge (**IPGRI, 1994**), le pois chiche (**IBPGR, ICRISAT et ICARDA, 1999**), le riz (**Biodiversity International et al. , 2007**)...etc., ce qui témoigne de l'importance accordée aux marqueurs morphologiques qui résultent d'une interaction entre le génotype et l'environnement.

1.1. Descripteurs du maïs

Les descripteurs publiés par l'International Board for Plant Genetic Resources – IBPGR (à présent International Plant Genetic Resources Institute – IPGRI) et le Centre International d'Amélioration du Maïs et du Blé (CIMMYT) en 1991, sont utilisés dans les caractérisations morphologiques quantitatives et qualitatives du maïs. Ces descripteurs, mondialement utilisés, sont complétés avec des caractères établis par les sélectionneurs locaux. L'intérêt est d'uniformiser la caractérisation des collectes pour la conservation et la rationalisation de l'utilisation du germplasma (**Bautista-Salas, 2009**).

Le codage des états des descripteurs est fait selon des normes acceptées internationalement et qui devraient être suivies comme indiqué, entre autres, ci-dessous (**CIMMYT et IBPGR, 1991**):

- Les mesures sont faites selon le système SI. Les unités à utiliser sont données entre crochets, à la suite du descripteur;
- Plusieurs caractères quantitatifs qui ont une variation continue sont notés sur la base d'une échelle de 1 à 9, où :
- 1 = Très faible ; 2 = Très faible à faible ; 3 = Faible ; 4 = Faible à moyenne ; 5 = Moyenne ; 6 = Moyenne à forte ; 7 = Forte ; 8 = Forte à très forte ; 9 = Très forte.
- La présence/absence de caractères est notée ainsi:
- + Présent ; 0 Absent
- Des blancs sont laissés pour les informations non encore disponibles.
- Les chartes de couleurs standards, comme «Royal Horticultural Society Colour Char» «Methuen Handbook of Colour», «Munsell Color Chart for Plant Tissue», sont fortement recommandées pour tous les caractères de couleur à variation continue (la charte utilisée devrait être indiquée dans la section où elle est utilisée).
- Les dates devraient être exprimées numériquement dans le format JJMMAAAA (DDMMYYYY) où: JJ 2 chiffres pour représenter le jour ; MM 2 chiffres pour représenter le mois ; AAAA 4 chiffres pour représenter l'année.

Une caractérisation et une évaluation préliminaire sont nécessaires pour la conservation des collections. Ainsi, une caractérisation dans le jargon de l'IBPGR, consiste à noter les caractères qui sont hautement héréditaires, qui peuvent être vus à l'œil nu, et qui s'expriment dans tous les environnements, alors qu'une évaluation préliminaire, quant à elle, consiste à noter un nombre limité de caractères additionnels (considérés comme désirables par un ensemble d'utilisateurs de la plante en question). Une évaluation avancée serait du ressort des sélectionneurs dans le cadre de programme d'amélioration de la plante (**CIMMYT et IBPGR, 1991**).

Pour une caractérisation et une évaluation préliminaire les données sur les descripteurs ne concernent pas uniquement la plante en question mais elles concernent également le milieu ou le site où elle sera caractérisée et évaluée (**CIMMYT et IBPGR, 1991**).

Parmi les données relatives au site de la caractérisation on compte : le pays de l'évaluation et de la caractérisation ; la latitude, la longitude et l'altitude du site en question ; la date de semis, la date de récolte, la pluviométrie annuelle, le pH du sol, le type de sol. A titre d'exemple la caractérisation du sol se fait selon l'échelle suivante :

1=Hautement organique ; 2=Argileux ; 3=Argilo-limoneux ; 4=Limoneux ; 5=Limono-sableux ; 6=Sableux ; 7=Sable-limoneux ; 8=Limoneux ; 9=Graveleux.

Pour le maïs, les données relatives à la plante concernent généralement des descripteurs de la phase végétative, de l'épi et du grain.

1.2. Données végétatives

- Nombre de jours pour la floraison mâle : c'est le nombre de jours entre le semis et le jour où plus de 50% des plantes produisent du pollen.
- Nombre de jours pour la floraison femelle : il s'agit du nombre de jours entre le semis et le jour où les soies sont visibles chez plus de 50% des plantes.

- Nombre de jours pour la sénescence de la feuille de l'épi : cela fait référence au nombre de jours entre le semis et le jour où la feuille de l'épi est sèche chez plus de 50% des plantes.
- Hauteur de la plante [cm] : du niveau du sol à la base de sa panicule mâle et après le stade grain-laiteux
- Hauteur de l'épi [cm] : du niveau du sol au nœud d'insertion de l'épi le plus haut (principal) et cela après le stade grain-laiteux.
- **Remarque** : Pour les deux derniers descripteurs, la moyenne d'au moins 20 plantes représentatives doit être notée.
- Feuillage : la surface foliaire totale, après le stade grain-laiteux est observée sur au moins 20 plantes représentatives : 3=Faible ; 5=Moyenne ; 7=Grande
- Nombre de feuilles au dessus de l'épi, la feuille de l'épi incluse, après le stade grain-laiteux et compté sur au moins 20 plantes représentatives.
- Indice de tallage : Nombre de talles par plante mesuré sur plus de 20 plantes au stade floraison
- Couleur de la tige : doit être indiquée sur au moins 20 plantes représentatives au stade floraison, et au plus trois couleurs de tige peuvent être indiquées dans l'ordre de leur fréquence : 1=Vert ; 2=Orange ; 3=Rouge ; 4=Pourpre ; 5=Brun.
- Verse racinaire : il s'agit du pourcentage de plantes versées au niveau racinaire à deux semaines avant la récolte.
- Casse : c'est le pourcentage de plantes cassées au niveau de la tige (sous l'épi) à deux semaines avant la récolte.
- Pubescence de la gaine à la floraison : 3=Faible ; 5=Moyenne ; 7=Fort.
- Type de panicule : au stade grain-laiteux : 1=Primaire ; 2=Primaire-secondaire ; 3=Primaire-secondaire-tertiaire.

1.3. Données sur l'épi

Les deux premiers descripteurs sont mesurés après la récolte, en employant tous les épis sur au moins 20 plantes représentatives par introduction.

- Couverture de l'épi : 3=Faible ; 5=Moyenne ; 7=Bonne
- Dégâts sur épi : c'est le niveau des dégâts sur épis causés par la pourriture et/ou les insectes...etc. 0=Aucun ; 3=Faibles ; 7=Importants.
- Disposition des rangées de grains sur l'épi en utilisant l'épi le plus haut : 1=Régulière ; 2=Irrégulière ; 3=Droite ; 4=Spiralée.
- Nombre de rangées : par le comptage du nombre de rangées de grains dans la partie médiane de l'épi le plus haut.

1.4. Données sur le grain

- Type de grain : Indiquer les types de grains (trois au maximum) dans l'ordre de leur fréquence : 1=Farineux ; 2=Semi farineux, avec une couche externe d'endosperme dur ; 3=Denté ; 4=Semi-denté, intermédiaire entre denté et corné, mais plus proche de denté ; 5=Semi-corné, corné avec extrémité molle ; 6=Corné ; 7=Doux ; 8=Opaque ; 9=Tunique ; 10=Cireux.
- Couleur du grain : Indiquer les couleurs de grains (trois au maximum) dans l'ordre de leur fréquence : 1 : Blanc ; 2 : Jaune ; 3 : Pourpre ; 4 : Bigarré ; 5 : Brun ; 6 : Orange ; 7 : Tacheté ; 8 : Extrémité blanche ; 9 : Rouge
- Poids de 1000 grains [g] : doit être ajusté à 10% d'humidité après la récolte.

2. Caractérisation moléculaire

2.1. Les marqueurs moléculaires

La gestion et l'exploitation de la variabilité génétique ont longtemps reposé sur l'utilisation unique des caractères morphologiques et/ou d'intérêt agronomiques. Ces derniers ont été les seuls outils disponibles pour retracer l'histoire des populations. Toutefois, la fiabilité de ces marqueurs s'est révélée, au fil du temps, insuffisante. En effet, il arrive fréquemment que les variations phénotypiques ne soient pas seulement liées à l'histoire évolutive des populations mais soient également déterminées par des facteurs du milieu (**Lazrek-Ben Friha, 2008**)

L'accès à d'autres niveaux d'étude de la diversité génétique comme ceux des protéines (isoenzyme) et de l'ADN remonte aux trois dernières décennies. Ces deux derniers types se sont révélés comme étant une source quasi illimitée de marqueurs (**De Vienne et al., 1994**).

Les marqueurs moléculaires présentent de nombreux avantages comparés aux marqueurs morphologiques et biochimiques notamment leur indépendance par rapport à l'organe analysé et au stade de développement de la plante, en outre ils ne sont pas influencés par les fluctuations environnementales (**Lanteri et Barcaccia, 2005 ; Moullet et al., 2005 ; Konate, 2007 et Bautista-Salas, 2009**). Ils permettent ainsi l'accès à l'histoire des populations.

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Idéalement, il doit être à hérédité simple (caractères mendéliens), multi-allélique (polymorphe), co-dominant et neutre vis-à-vis du milieu. Un marqueur est neutre lorsqu'il ne produit aucun changement aux caractères métaboliques ou phénotypiques (**Bautista-Salas, 2009**). En d'autres termes, un marqueur moléculaire doit être neutre vis-à-vis de la sélection, car l'analyse de la diversité génétique neutre permet de comprendre la structuration spatiale de la diversité et de construire des hypothèses sur les différents événements liés à la domestication et à la diffusion de la plante (**Nordborg et al. 2005**). En outre, les marqueurs neutres et co-dominants sont nécessaires pour analyser la structuration des populations.

Les marqueurs moléculaires peuvent se révéler être extrêmement variés pour des plantes ayant la même morphologie et physiologie (**Ellis et al., 2005**). Ils permettent d'identifier le polymorphisme entre familles, genres, espèces, variétés, populations et même entre les individus, ce qui fait d'eux des indicateurs de la variabilité génétique très efficaces dans la phylogénie moléculaire.

Les applications des marqueurs moléculaires concernent l'étude de la diversité et la caractérisation des ressources génétiques, la sélection assistée par marqueurs moléculaires, et l'identification génétique: matériel de sélection et variétés (**Roldan-Ruiz et al., 2005**). En effet, ils permettent de détecter, sur le génome de la plante, le polymorphisme de séquences d'ADN (codantes ou pas) d'un certain nombre de loci. Les données obtenues peuvent alors être utilisées, entre autres, comme empreintes génétiques permettant la caractérisation du génotype de l'individu et au passage d'identifier la structure génétique de populations entières.

De plus, selon **Moullet et al. (2005)** et **Roldan-Ruiz et al. (2005)**, l'utilité des marqueurs moléculaires dans l'amélioration génétique et dans les programmes de sélection assistée par marqueur réside dans la possibilité de détection précoce d'allèles d'intérêt avant même l'expression du phénotype. Cependant, il est important de réaliser que, dans

la plupart des cas, l'utilisation des marqueurs ADN n'élimine pas complètement le besoin de faire des tests phénotypiques sur les plantes.

Les marqueurs moléculaires ont beaucoup été utilisés pour identifier, maintenir, caractériser et évaluer les ressources génétiques avec plusieurs espèces de plantes ; et la majorité des méthodes basées sur le marquage moléculaire détecte des mutations ponctuelles de la séquence d'ADN (comme par exemple les techniques : AFLP (Amplified fragment length polymorphism), RFLP (Restriction fragment length polymorphism) ou SNP (Single nucleotide polymorphism)), ou bien des modifications du nombre de copies de motifs répétés très courts de type microsatellites SSRs (Simple Sequence Repeats). Ces derniers seraient les plus polymorphes et les plus informatifs.

2.1.1. Marqueur microsatellites ou Séquence Simple répétée (SSR)

Les microsatellites ou SSRs sont des séquences d'ADN constituées de répétitions en tandem de motifs mono, di, tri ou tétranucléotides. Ils sont révélés par réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction, PCR) de l'ADN (**Tautz et Renz, 1984**).

Les motifs les plus courants sont $(A)_n$, $(AT)_n$, $(GA)_n$, $(TAT)_n$ et $(GATA)_n$...etc, la valeur de n pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. Selon **Morgante et Olivieri (1993)**, de tels motifs sont très répandus dans le génome des végétaux supérieurs et selon les premières estimations il y aurait en moyenne un microsatellite dinucléotidique tous les 30 à 100 kb.

Du fait de leur présence dans les séquences codantes et non codantes du génome, deux types de microsatellites ont été décrits: dans le type I, les marqueurs sont localisés au sein de gènes de fonctions connus et sont utiles pour étudier l'évolution du génome (**Vignal et al., 2002**). Le type II est sans fonction connue, très répandu et bien plus polymorphe que le type I.

Outre leur distribution sur l'ensemble du génome, l'intérêt des microsatellites réside dans leur polymorphisme extrêmement élevé. Ce dernier est dû à des variations dans la longueur de la répétition. Le polymorphisme de longueur sur un locus montre souvent des dizaines d'allèles différents les uns des autres dans le nombre de répétitions (**Figure 4**). Ce polymorphisme est causé principalement par des erreurs de glissement de la polymérase lors de la réplication des chromosomes en plus des mécanismes évolutifs auxquels sont soumises les séquences d'ADN tels que les crossing-over asymétriques (**Santoni et al., 2000**). Les microsatellites sont, par conséquent trop instables et fortement contre-sélectionnés. Effectivement, une estimation des taux de mutation des microsatellites chez l'homme et chez certains animaux (**Primmer et al., 1996**) a été réalisée et montre que ces taux sont très élevés comparés aux taux de mutations des autres séquences d'ADN génomique, ce qui explique le fait que les microsatellites marquent **essentiellement** les régions non codantes du génome (**Jarne et al., 1996**).

Selon **Santoni et al. (2000)**, un motif microsatellite donné n'est pas spécifique à un locus, tandis que les séquences le bordant le sont. Ainsi, une paire d'amorces oligonucléotidiques spécifiques de ces régions bordantes peut permettre via la PCR d'amplifier ce seul locus microsatellite. Autrement dit, le développement de marqueurs microsatellites se résumerait en la définition des amorces bordantes spécifiques.



Figure 4: le polymorphisme de longueur pour un même locus

(Bautista-Salas, 2009)

Après la PCR, la taille des produits amplifiés est estimée par électrophorèse sur gel (d'agarose ou d'acrylamide) ou avec un séquenceur.

Les microsatellites sont des marqueurs co-dominants, c'est-à-dire que nous pouvons distinguer les individus homozygotes de l'hétérozygote (**Figure 5 et 6**). Notez bien qu'il ne s'agit pas de séquences complémentaires d'un locus, mais de séquences de deux allèles d'un même locus, c'est à dire situées sur les deux chromosomes homologues.

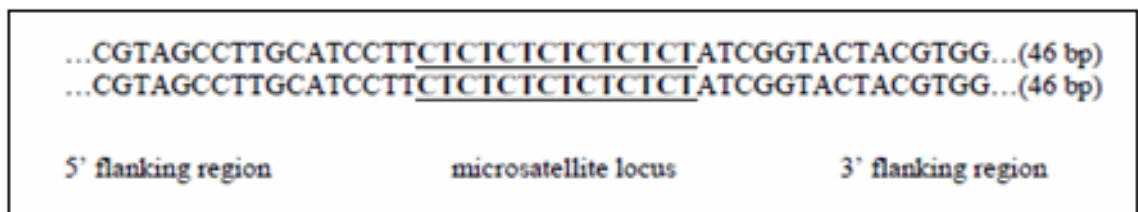


Figure 5: un microsatellite homozygote

(Mburu et Hanotte, 2005)

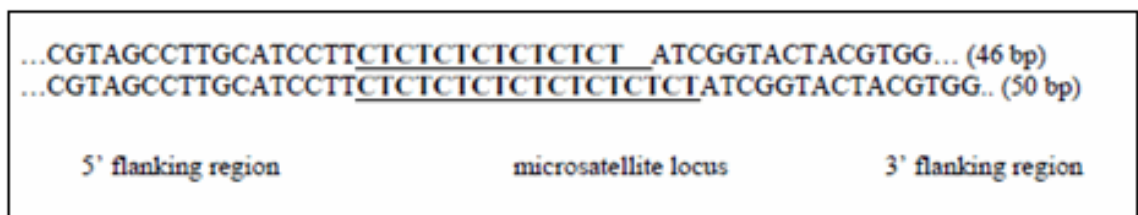


Figure 6: un microsatellite hétérozygote

(Mburu et Hanotte, 2005)

2.1.2. Avantages et les inconvénients des marqueurs microsatellites

Les microsatellites font partie des marqueurs moléculaires les plus puissants pour révéler le polymorphisme et sont, de ce fait, de plus en plus utilisés dans de nombreuses études, telles que la l'identification d'individus, les analyses phylogénétiques, la cartographie de QTL's,

l'étude des flux de gènes...etc. Ce sont des marqueurs de choix par leur répartition sur l'ensemble du génome, leur spécificité de locus, leur codominance et leur polymorphisme très élevé. De plus, ils sont faciles à utiliser une fois leur mise au point effectuée (les protocoles sont en partie automatisés et sont basés sur la PCR). Ainsi, seules de petites quantités d'ADN sont nécessaires (**Mburu et Hanotte, 2005**).

Cependant, **Vigouroux et al. (2002, 2005)** ont démontré que certains SSR's notamment ceux appartenant aux régions codante, pouvaient ne pas être neutre, car ils peuvent être affectés par la sélection artificielle lorsqu'ils sont liés aux gènes d'intérêt. Cela pourrait biaiser l'interprétation des études phylogénétiques. Cependant, ces marqueurs sont relativement bon marché et simples à mettre en œuvre comparativement aux autres.

2.2. Caractérisation moléculaire de la diversité génétique chez le maïs

Les premiers travaux de caractérisation du maïs par les isozymes ont été menés par **Brown et Allard (1969)**. Ces auteurs ont pu identifier 12 lignées de maïs avec 5 loci pour 5 systèmes enzymatiques. Suivirent les travaux de **Hunter et Kannenberg (1971)** qui ont caractérisés 15 lignées de maïs avec 11 loci pour 5 systèmes enzymatiques. **Gothardo et Heidrich – Sobrino (1982)** ont identifié deux populations américaines de maïs avec 20 loci pour 4 systèmes enzymatiques. Par ailleurs, dans les travaux qui ont conduit à élucider l'origine de la domestication du maïs, **Doebley et al. (1984)** ont analysé les variations isozymiques entre des populations de maïs et de téosinte. En outre, **Mudry et Kraic (2007)** ont évalué la diversité génétique de 62 populations de maïs et 48 allèles ont été dénombrés pour 22 loci isoenzymatiques et **Revilla et al. (2003)** ont caractérisé 404 populations de maïs européen avec 19 loci isozymatiques. Cependant, la limitation principale de ces techniques réside dans le faible polymorphisme détecté au sein des cultivars étroitement liés (apparentés).

Les marqueurs RFLP ont été les premiers marqueurs moléculaires à ADN (marqueurs *a priori* neutres) à être utilisés dans les programmes d'amélioration du maïs (**Lee et al., 1989; Bernardo, 1994 in Carvalho et al., 2004**) ; ils ont servi intensivement par la suite dans l'évaluation de la diversité génétique de cette céréale (**De Vienne et al., 1994 ; Dubreil et Charchosset, 1998; Rebourg et al., 2001 et Rebourg et al., 2003**). Cependant, la technique est difficilement automatisable, elle demande beaucoup de travail et de temps, les grandes quantités d'ADN nécessaires à sa réalisation sans oublier les risques auxquels s'exposent les chercheurs du fait de l'utilisation de sondes chaudes (marquées par des radio-isotopes).

Après les isozymes et les RFLP, suivirent les marqueurs RAPD qui ont constitué la première catégorie de marqueurs neutres basés sur la PCR (Réaction de Polymérisation en chaîne). Ces marqueurs ont, non seulement, été plus faciles à utiliser et à obtenir que les marqueurs RFLP, mais aussi très utiles pour le maïs et dans plusieurs autres domaines, entre autre les travaux de caractérisation de la diversité génétique de population naturelles, de populations incluses dans des programmes de sélection et même pour la constitution de « core collections », où ils ont nettement fait leur preuve (**Moeller et Schall, 1999 ; Carvalho et al., 2004 ; Bruel et al., 2007 ; Okumus, 2007**). Il s'agit, ici, de marqueurs assez performants et faciles à obtenir. Toutefois, même s'ils ont pu pallier à certaines difficultés liées aux marqueurs RFLPs comme l'automatisation, certains problèmes de reproductibilité de l'amplification restent fréquemment observés ce qui entraîne des erreurs d'interprétations (**Demeke et al., 1997; Karp et al., 1997 in Ignjatovic-Micic et al., 2007**).

Les marqueurs AFLP ont démontré une plus grande efficacité dans la détection de polymorphisme dans l'étude de la diversité génétique du maïs comparé aux marqueurs RAPD et RFLP et ont été parfois même égale ou plus efficace que les SSRs (**Garcia et**

al. , 2004 ; **Beyene et al.** , 2005 et **Ignjatovic-Micic et al.** 2007). Cependant, les marqueurs AFLP sont des marqueurs dominants et seulement bialléliques. En général, les marqueurs dominants ne sont utilisables que dans des populations à fort taux de fixation, où les individus hétérozygotes sont presque inexistantes. Le fait qu'ils soient très proches des SSRs sur l'échelle de l'efficacité s'explique par le grand nombre de loci polymorphiques qu'ils peuvent révéler, chose qui compense la perte de données due à la dominance (**Gerber et al.**, 2000 in **Garcia et al.** , 2004).

2.3. Marqueurs microsatellites et caractérisation moléculaire chez le maïs

Les marqueurs microsatellites ont été développés chez le maïs pour palier aux différents inconvénients liés aux autres marqueurs neutres.

D'anciennes études sur les microsatellites au niveau du génome du maïs rapportent qu'ils y sont abondants et extrêmement variables. Afin d'en déterminer l'abondance et la variabilité, **Chin et al.** (1996), ont scanné 576 séquences de maïs se trouvant dans les banques de données GenBank et EMBL ; 200 microsatellites ont été identifiés et isolés pour tester leur variabilité sur neuf lignées fixées de maïs. Seuls 69 d'entre eux étaient polymorphiques. Par ailleurs, **Taramino et Tingey (1996)**, par criblage de banques génomiques de maïs, ont identifié 150 autres microsatellites mais n'en ont isolé que 34 pour analyser la diversité génétique de 12 lignées autofécondées de maïs déjà caractérisées à l'aide de marqueurs RFLP. La comparaison entre les résultats des deux types de marqueurs a permis de démontrer la grande utilité des microsatellites dans les travaux de cartographie et d'étude du germplasma chez le maïs.

Tous les microsatellites et les primers développés chez le maïs sont répertoriés dans la Maize Genomic and Genome Data Base « MaizeGDB » www.maizegdb.org .

Les microsatellites ont permis de tracer l'histoire évolutive du maïs et de préciser l'origine de ses populations dans plusieurs pays. Il s'agit d'études phylogénétiques. Par exemple, la grande diversité du maïs dans le monde a poussé **Matsuoka et al.** (2002) à poser l'hypothèse selon laquelle il existe plusieurs centres de domestication du maïs. Pour vérifier cette hypothèse, les chercheurs ont collecté un totale de 264 populations de maïs et de téosinte sur un territoire allant du Sud de l'Amérique latine au Nord du Canada. L'étude Phylogénétique a été réalisée avec 99 microsatellites. Les distances génétiques obtenues grâce à cette étude ont montré que le centre de domestication du maïs est unique étant donné que le maïs actuel est un descendant direct de la téosinte de Balsas River ou *Zea mays* ssp. *parviglumis*.

Les récentes dernières années ont vu un grand nombre de pays utiliser les marqueurs microsatellites dans le but d'évaluer la diversité génétique de leurs populations locales ou « landraces », de leurs variétés ou de leurs lignées de maïs.

L'une des études les plus importantes sur l'évaluation de la diversité génétique des populations de maïs et l'analyse de leur structure est celle de **Vigouroux et al.** (2008). Cette équipe a collecté un totale d'environ 350 populations propres aux Amériques (Nord, Centrale et Latine) et 964 individus ont été génotypés avec 96 microsatellites. L'analyse des résultats a révélé, entre autres, que les populations locales du Mexique détenaient la plus grande diversité génétique.

En Amérique latine, plus précisément au sud du Brésil la caractérisation de la diversité génétique de populations locales de maïs a été menée par **Wietholter et al.** (2008). Ces derniers ont utilisé 21 SSRs pour génotyper 37 populations de maïs Sud-Brésoiliennes. Un travail similaire a été fait en Argentine sur 26 populations traditionnelles de maïs, à grains

lisses et de couleur orange, avec 21 SSRs (**Morales et al. , 2010**). Toujours en Argentine, **Lia et al. (2009)** ont déterminé la diversité génétique, la structure et les affiliations raciales de 6 populations autochtones de maïs provenant du Nord-Ouest Argentin en étudiant la variation de 18 microsatellites au sein de ces populations.

En Europe, **Eschholz et al. (2010)**, ont caractérisé, à l'aide de 10 marqueurs microsatellites, 186 accessions de maïs Suisse. Ils ont, ainsi, pu tirer des conclusions quant à l'origine du maïs en Suisse et ont détecté une frontière culturelle séparant le Nord et le Sud du pays. En Croatie, 13 lignées pures de maïs constituant le germplasma de base ont été caractérisées en utilisant 98 marqueurs SSRs répartis uniformément sur le génome du maïs (**Jambrovic et al. , 2008**). Pour évaluer la diversité génétique au sein de 54 lignées pures de maïs aux grains lisses et denté au Portugal, **Vaz Patto et al. (2004)** ont utilisé 15 microsatellites. 50 accessions américaines et d'autres européennes ont été génotypées simultanément et ont servi à la comparaison. Une très grande diversité fut observée au sein des accessions portugaises. L'analyse des clusters a montré que toutes les lignées se distinguaient les unes des autres et que, plus particulièrement, les lignées Portugaises étaient présentes dans tous les clusters formés. Cela signifie que le maïs portugais a plusieurs origines d'où la grande variabilité détectée.

En Asie, la caractérisation de populations indiennes de maïs et plus précisément des régions Nord-Est de l'Himalaya, a été réalisée par **Sharma et al. (2010)**. Leur analyse a porté sur un lot de 48 accessions qui ont été génotypées par 42 marqueurs SSRs. Ces derniers leur ont permis de découvrir une diversité génétique extrêmement riche au sein des 48 populations. En Chine, deux groupes de populations de maïs portant le même nom ont été caractérisés en utilisant 52 microsatellites. Au totale 44 populations ont été génotypées. Cependant une faible variation génétique entre les deux groupes a été observée. Néanmoins, une très grande diversité génétique subsistait au sein de chaque groupe ce qui préconise deux systèmes d'amélioration différents pour chacun des groupes (**Liu et al. , 2009**). De plus, la révélation de la diversité génétique de 124 populations de maïs a été réalisée grâce à 45 marqueurs microsatellites par **Yao et al. (2008)**. Cette étude a permis d'identifier 180 génotypes qui pourraient être à la base de la construction d'une « core collection » propre à la région d'origine des populations. En Iran, le niveau de la diversité génétique au sein de 56 lignées iraniennes de maïs a été évalué par 46 microsatellites. un total de 225 allèles ont été détectés et les 56 lignées ont été divisées en 4 clusters différents (**Choukan et al. , 2005**).

En Afrique, l'Éthiopie est un pays où la culture du maïs se pratique depuis plus de trois cent ans. Récemment **Beyene et al. (2006)** ont analysé 62 populations locales en utilisant 20 marqueurs microsatellites et une grande diversité génétique fut observée. Cette étude leur a permis, entre autre, d'envisager le développement de programmes d'amélioration et de création de variétés nouvelles adaptées à leur environnement et à la demande du consommateur local. Aussi, au Kenya, la diversité génétique au sein de 10 lignées de maïs a été évaluée à l'aide de 14 marqueurs SSRs. Le groupe d'accession fut divisé en 4 groupes majeurs et au total seuls 2 allèles ont été détectés (**Karanja et al. , 2009**).

En générale, la majorité des travaux d'identification génétique de lignées pures de maïs vise le développement d'hybrides hautement hétérozygotes. De plus, les microsatellites sont des outils de choix dans les programmes de sélection assistée par marqueurs (SAM), car celle ci est basée sur la possibilité de détecter la présence d'un gène ou d'une caractéristique agronomique intéressante par la recherche du marqueur qui lui est étroitement lié.

En Algérie, aucun travail visant à caractériser génétiquement des populations locales de maïs à l'aide de marqueurs microsatellites n'a encore vu le jour.

3. Mesure de la diversité génétique

La diversité et la structure génétique des espèces végétales varient en fonction de leur système de reproduction, cycle de vie, distribution géographique ainsi que leur statut taxonomique (**Hamrick et Godt, 1997**).

La transmission des différents allèles et leurs fréquences dans une population est très difficile à prévoir, et de très nombreux facteurs peuvent modifier la fréquence de ces allèles (mutation, migration, différence de survie ou fécondité entre individus). En outre, il faut prendre en compte la transmission simultanée d'un grand nombre de gènes polymorphes qui peuvent interagir entre eux et qui ne sont donc pas indépendants (**Bautista-Salas, 2009**).

Pour contourner ces difficultés il est important d'aborder la transmission des caractères dans un cas simple appelé population théorique et qui se définit par les caractéristiques suivantes :

- Population d'organismes diploïdes à reproduction sexuée et à générations non chevauchantes (aucun croisement entre individus de générations différentes).
- Populations d'effectifs infinis où les croisements sont entièrement aléatoires.
- Populations closes génétiquement (absence de flux migratoires).
- Tous les individus, quels que soient leurs génotypes, ont la même capacité à se reproduire et à engendrer une descendance viable = absence de sélection.
- Absence de mutation et de distorsion de ségrégation méiotique (un individu Aa produira toujours 50% de gamètes A et 50% de gamètes a).

Parmi ces caractéristiques, l'hypothèse la plus importante est le croisement au hasard des individus, appelé système de reproduction panmictique. Cette hypothèse suppose que chaque individu ne choisit pas son partenaire sexuel ni en fonction de son génotype, ni en fonction de son phénotype (panmixie) et que la rencontre des gamètes se fait par hasard (pangamie), c'est la loi de Hardy – Weinberg (**Bautista Salas, 2009**).

3.1. Equilibre de Hardy – Weinberg

En génétique des populations, le principe de Hardy – Weinberg (**EHW**), établit que la composition génétique d'une population reste en équilibre sous certaines conditions : que l'organisme en considération soit diploïde, qu'il existe un croisement aléatoire dans la population, que la taille de la population soit assez grande pour diminuer l'effet de la dérive génétique et qu'il ne subisse pas de sélection, mutation, migration (flux de gènes). En d'autres termes, après une génération de croisement au hasard, les fréquences des génotypes d'un locus individuel atteignent une valeur d'équilibre particulier (les fréquences génotypiques observées seront très proches des celles attendues théoriquement). Cette théorie spécifie aussi que ces fréquences d'équilibre peuvent être représentées comme une fonction simple des fréquences alléliques à ce locus (**Bautista Salas, 2009 et Ould Ahmed, 2009**).

Le principe de Hardy-Weinberg est une théorie qui stipule qu'il y a un équilibre de la fréquence des allèles et des génotypes au cours des générations (**figure 7**). Dans le cas le plus simple, avec un locus avec deux allèles (A) et (a) de fréquences alléliques (**p**) et

(q) respectivement, la loi **EHW** prédit que la fréquence génotypique pour l'homozygote AA est p^2 , celle de l'hétérozygote (Aa) est de $(2pq)$ et celle de l'homozygote (aa) est (q^2) .

Quand les hypothèses de Hardy-Weinberg ne sont pas réunies, ceci peut causer une déviation significative, c'est à dire que les fréquences génotypiques observées seront différentes des attendus ou théoriques.

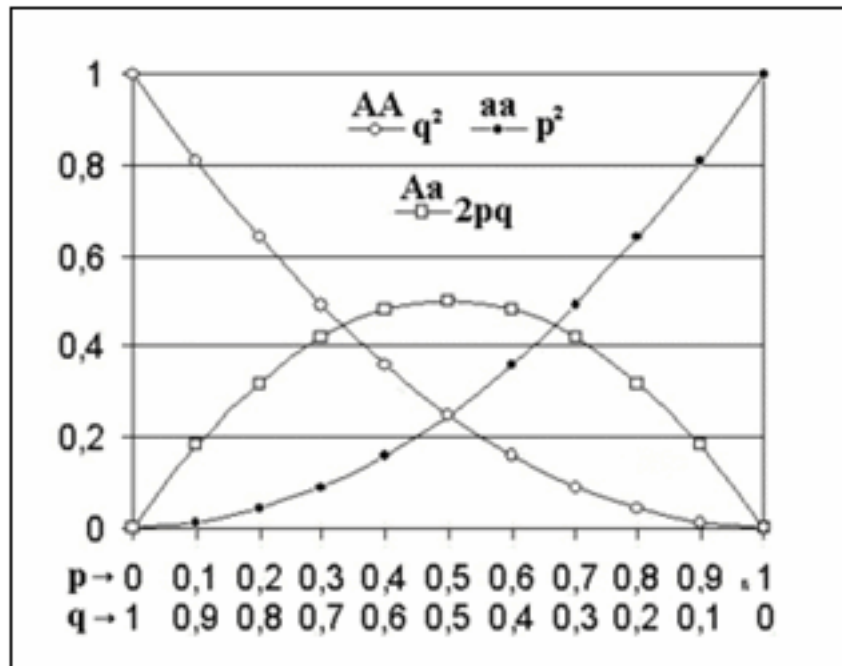


Figure 7 : Représentation schématique de l'équilibre de la fréquence des allèles et des génotypes proposé par Hardy – Weinberg ([http://fr.wikipedia.org/wiki/Principe de Hardy – Weinberg](http://fr.wikipedia.org/wiki/Principe_de_Hardy_-_Weinberg)).

3.2. Paramètres de la diversité génétique intra population

3.2.1 Fréquences alléliques (π)

La fréquence allélique est 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.

3.2.2. Hétérozygotie (H_e et H_o)

Les indices d'hétérozygotie représentent la proportion d'hétérozygotes au sein des sous populations ou de la population totale.

L'indice **H_e** représente l'hétérozygotie attendue pour une population en panmixie, c'est la probabilité que 2 individus choisis (4 allèles, 2 copies des gènes de deux individus) aléatoirement dans une population aient des allèles différents d'un locus donné. Il est estimé à partir des fréquences alléliques ($2pq$) (**Nei, 1973**).

L'indice **H_o** représente l'hétérozygotie observée, il est mesuré à partir des analyses génotypiques. En comparant ces deux indices il est possible de déduire l'impact des forces évolutives dans les populations, dues à l'autofécondation ou à l'autogamie.

3.2.3. Pourcentage de loci polymorphes (**P**)

Il s'agit du nombre de loci polymorphes par rapport au nombre total de loci étudiés. Une population est dite polymorphe à un locus si la fréquence de l'allèle le plus commun à ce locus est inférieure à un seuil arbitrairement choisi, généralement 0,99 ou 0,95, ce seuil est le plus souvent en relation avec la taille de l'échantillon. Ainsi pour une population dont la taille est supérieure ou égale à 100, le seuil de 0,99 peut être utilisé. L'utilité de ce paramètre dépend du nombre de loci analysés. **P** n'est pas informatif lorsque peu de loci sont analysés (**Berg et Hamrick, 1997**). En outre, **P** est en fonction de la taille de l'échantillon analysé, les allèles aux faibles fréquences pouvant être facilement observés dans des échantillons de grande taille. De ce fait, ce paramètre n'est pas un bon indicateur de la variabilité allélique (**Nei, 1978**).

3.2.4. Nombre d'allèles par locus (**A**) et par locus polymorphe (**A_p**)

D'autres paramètres de mesure de la variabilité comme la moyenne du nombre d'allèles par locus (**A**) et la moyenne du nombre d'allèles par locus polymorphe (**A_p**) peuvent être utilisés. Le nombre d'allèles présent à un locus donné représente la richesse allélique d'une population qui est connue pour dépendre de la taille de l'échantillon, puisque les chances de découvrir un nouvel allèle augmentent chaque fois qu'un nouvel individu est observé) (**Foulley et Ollivier, 2006**).

3.3. Paramètres de la diversité génétique inter populations

3.3.1. F-Statistiques

Dans une population subdivisée, il existe trois niveaux de complexité : les individus (I), les sous-populations (S) et la population totale (T). Dans ce travail, les accessions relatives aux régions représentent les sous-accessions et l'ensemble des sous-accessions représente l'accession globale. Pour mesurer l'organisation de la diversité génétique dans une population, **Wright (1978)** a défini l'hétérozygotie de chacun de ces trois niveaux respectivement par les paramètres suivants : HI, HS et HT.

- Le premier paramètre HI correspond à l'hétérozygotie moyenne des individus sur l'ensemble des sous-populations. Il représente également l'hétérozygotie moyenne observée pour l'ensemble des gènes (ou loci) d'un individu. C'est aussi la probabilité de l'hétérozygotie en un locus pris au hasard.
- Le second paramètre HS indique l'hétérozygotie attendue par individu pour chaque sous-population en supposant qu'elle est sous l'équilibre de Hardy-Weinberg. HS représente aussi l'hétérozygotie attendue dans une sous-population supposée en équilibre de Hardy Weinberg.
- Enfin, le dernier paramètre HT représente l'hétérozygotie attendue par individu, en supposant que la population globale est sous l'équilibre de Hardy Weinberg. En d'autres termes, c'est l'hétérozygotie attendue si toutes les sous-populations étaient regroupées en une seule unité panmictique (**Ould Ahmed, 2009**).

Trois indices sont générés à partir de ces niveaux d'hétérozygoties : FIS, FST et FIT. Ces derniers mesurent l'écart de l'hétérozygotie par rapport à l'équilibre de Hardy – Weinberg à différents niveaux.

Wright (1978) a proposé les F-statistiques pour caractériser la structure génétique d'une population à travers ses sous populations.

L'indice **FIS**, appelé coefficient de consanguinité, mesure la réduction éventuelle de l'hétérozygotie des individus à l'intérieur de leur sous-population. En cas de consanguinité, cet indice est positif et indique un déficit en hétérozygotie. Evidemment, il prend la valeur zéro si les sous-populations sont en équilibre de Hardy – Weinberg. En revanche, s'il est négatif, les populations présentent un excès d'hétérozygotie (**Bautista-Salas, 2009 et Ould Ahmed, 2009**)

L'indice **FIT** mesure la déviation génotypique par rapport à l'Equilibre de HW sur l'ensemble de toutes les populations. Il mesure, donc, la réduction de l'hétérozygotie globale entre l'individu et la population globale théorique (**Bautista-Salas, 2009 et Ould Ahmed, 2009**)

Cependant, l'indice de fixation **FST**, mesure le niveau de différenciation génétique entre les sous-populations. C'est un indice de la variation génétique entre les sous-populations. Cet indice mesure la réduction relative des hétérozygotes liée aux différences alléliques entre sous populations. Il varie de 0 à 1. Si les populations sont identiques, $FST = 0$; $0 < FST < 0.05$ signifie une différenciation faible, $0.05 < FST < 0.15$ signifie une différenciation modérée et $0.15 < FST < 0.25$ signifie une différenciation importante, et au delà, **FST** sera très important (**Bautista-Salas, 2009**).

3.3.2. Distance génétique entre populations

Une autre approche de l'étude de la différenciation génétique entre des individus ou des populations est l'analyse du degré de similitude entre eux ou entre elles. La distance génétique quantifie le degré de divergence génétique entre unités taxonomiques (populations, espèces, ...) prises deux à deux. La distance génétique augmente entre les sous populations en fonction du temps de leur divergence à partir de la population d'origine (**Gonzales-Candelas et Palacios, 1995**). En effet, la distance génétique entre deux échantillons est définie comme la proportion d'éléments génétiques qu'ils n'ont pas en commun. $D = 1$ si et seulement si les deux échantillons n'ont pas d'éléments génétiques en commun (**Ould Ahmed, 2009**)

Dans le cas où plus de deux populations sont analysées et que toutes les paires possibles de distance sont estimées, une matrice de distances peut être construite. À partir de cette matrice de distances, des analyses multi variées peuvent être effectuées : Soit pour faire une classification, dans ce cas, les groupements sont représentés par un dendrogramme ; soit pour faire de la phylogénie qui est alors représentée graphiquement par un arbre phylétique (**Bautista-Salas, 2009**) ; les populations sont agrégées de telle sorte que les plus proches génétiquement soient aussi les plus proches sur le dendrogramme (**Lamara, 2010**).

Plusieurs mesures de distance génétique ont été proposées. La plus utilisée est actuellement celle de Nei (**Nei, 1978**). Cette distance s'établit sur un ensemble de locus (>10) afin d'obtenir une meilleure estimation. Si la distance génétique D est par exemple égale à 0,57, cela signifie que 0,57 substitutions alléliques par locus (ou 57 substitutions pour 100 locus) sont survenues au cours de l'évolution séparées des deux populations (**Lazrek-Ben Friha, 2008**).

Diverses méthodes d'analyse de la structure sont disponibles mais la plus simple est celle qui utilise l'algorithme UPGMA («Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages») ou Méthode de Groupes paires Hiérarchiques non pondérés avec le cluster de l'analyse de la moyenne arithmétique.

MATERIEL ET METHODES

I Rappel de l'objectif du travail

Vingt quatre accessions locales de maïs provenant de diverses régions d'Algérie ont fait l'objet de notre étude. Cette dernière s'inscrit dans le cadre d'un projet en collaboration avec la Misión Biológica de Galicia (MBG, Pontevedra, Espagne.), affiliée au Conseil Supérieur de la Recherche Scientifique (CSIC).

L'objectif général du travail est de caractériser la diversité du maïs Algérien et de construire une « collection nucléaire » pour son étude et son utilisation dans les futurs programmes d'amélioration.

La présente étude vise à :

1. Caractériser 24 accessions traditionnelles à l'aide de 18 marqueurs microsatellites sélectionnés par la MBG en se basant sur son expérience dans les domaines de l'étude de la diversité génétique du maïs et son amélioration et de trois descripteurs morphologiques : type de grain, couleur du grain et forme de l'épi.
2. Analyser la diversité, inter et intra-accession, ainsi que la structure génétique des 24 accessions.

Ainsi, notre étude représente un premier pas vers la valorisation de cette culture, délaissée depuis bien longtemps dans notre pays. A long terme, un impact des recherches intégrant les informations génétiques et fonctionnelles est attendu pour appliquer les connaissances acquises dans le domaine agronomique. En effet, la collecte, la caractérisation et la conservation des ressources génétiques du maïs s'impose, car il s'agit là d'un patrimoine qu'il est nécessaire de préserver et de mieux connaître afin de mieux l'utiliser.

II Matériel végétal

Au terme d'une prospection dans le sud Algérien, 50 accessions locales de maïs de provenances différentes, ont été collectées. Vingt quatre accessions ont été sélectionnées dans un premier temps pour évaluer leur variabilité génétique. Parmi les 24 accessions, plus de 50% d'entre elles sont originaires de la wilaya d'Adrar. Les autres accessions proviennent d'autres régions d'Algérie, notamment des wilayates de Bechar, Tamanrasset, Ghardaïa, El oued et Saïda.

Les différentes accessions ont été, dans un premier temps, codifiées. Chaque code est constitué de trois lettres (selon le nom d'origine de l'accession) et commence par deux lettres communes à tous les codes : DZ pour désigner l'origine algérienne du matériel végétal. Le **tableau 3** représente les différentes régions prospectées d'où proviennent les 24 accessions de maïs faisant l'objet de ce travail.

Code de l'accession	Régions d'origine	Date de collecte
DZ-AAS	Ouled Arroussa, Sud d'Adrar	11-2009
DZ-BAB	Beni Abbes, Bechar	22-03-2010
DZ-BSA	Ouakouh, Bechar	24-03-2010
DZ-BTM	Taghit, Bechar	24-03-2010
DZ-FEZ	Foggaret E'Ziwa, Ain Salah, Tamarrasset	/
DZ-GHM	Ain Loussia, Mansoura, Ghardaia	/
DZ-GOL	El Goléa, Adrar	/
DZ-IGR	Inghar, Ain Salah, Tamarrasset	/
DZ-IGS	Ain Salah, Tamarrasset	/
DZ-ILT	Lebouared, Igli, Bechar	/
DZ-KAL	Kali, Ouled Saïd, Timimoune, Adrar	22-03-2010
DZ-KHL	K'ser El Hadj, Acougrou, Timimoune Adrar	11-2009
DZ-KST	K'sar Tmana, Timimoune Adrar	11-2009
DZ-LOM	Ouled Mahmoudé Lamtarfa sud d'Adrar	/
DZ-LAH	Tamest, sud d'Adrar	/
DZ-MGH	El Mghaier, Oued Souf	15-04-2010
DZ-MST	K'sar M'sehel, Timimoune	11-2009
DZ-OBC	Ouakda, Bechar	24-03-2010
DZ-OST	Ouled Saïd, Timimoune, Adrar	22-03-2010
DZ-SHH	Sidi Maamar, Ain El Hadjar, Saïda	/
DZ-TAO	Taourit, Adrar	22-03-2010
DZ-TBN	Acougrou Timimoune, Adrar	/
DZ-TGN	Acoulef Sud d'Adrar	/
DZ-TKR	K'seur Tela, Timimoune, Adrar	22-03-2010

Tableau 3: Origine géographique des 24 accessions étudiées.

Parmi les 24 accessions, 15 ont été caractérisées génétiquement. Pour les 9 autres accessions, seules l'extraction de l'ADN et sa quantification ont été réalisées.

Par ailleurs toutes les accessions ont fait l'objet d'une caractérisation morphologique préliminaire. Cette dernière sera d'une grande utilité pour l'interprétation des résultats de la caractérisation génétique par voie moléculaire (SSR). Pour cela, nous nous sommes basés sur les descripteurs morphologiques suivants : la couleur du grain, le type de grain et la forme de l'épi.

La **figure 8** représente la carte géographique indiquant les points de collecte des 24 populations. Les populations ayant fait l'objet d'une analyse SSR sont au nombre de 15 et il s'agit de : DZ-AAS, DZ-BAB, DZ-BSA, DZ-BTM, DZ-SHH, DZ-LOM, DZ-OBC, DZ-MST, DZ-TAO, DZ-GOL, DZ-IGS, DZ-OST, DZ-KST, DZ-KAL et DZ-MGH. Les 9 autres populations sont : DZ-FEZ, DZ-GHM, DZ-IGR, DZ-ILT, DZ-KHL, DZ-LAH, DZ-TBN, DZ-TGN et DZ-TKR.

Fautes de moyens au départ du présent travail, toute la partie SSR a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie moléculaire du groupe Maïs de la MBG, où l'extraction,

la quantification, l'amplification par PCR ainsi que la révélation par électrophorèse des amplifia de l'ADN des 15 accessions, ont été réalisées. Quant aux neuf autres accessions, l'extraction et la quantification de leur ADN respectifs ont été réalisées au niveau du Laboratoire des Ressources Génétiques et Biotechnologies, ENSA, El Harrach, Alger.

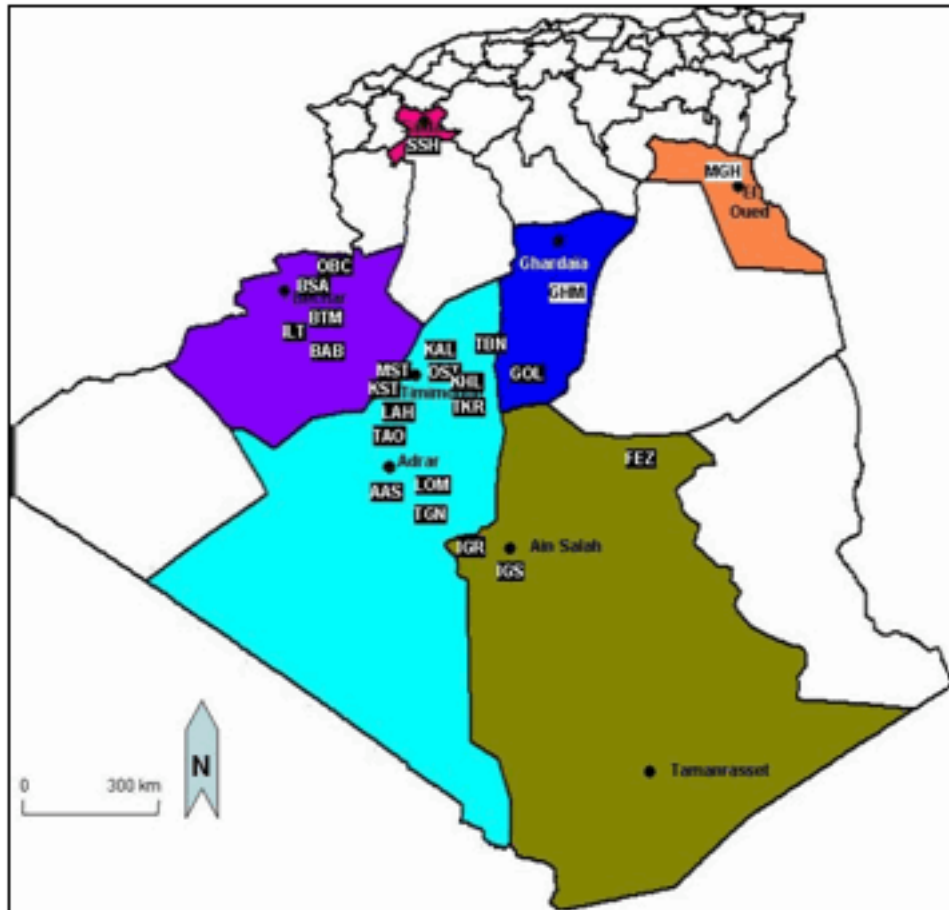


Figure 8: Point de collecte des 15 accessions de maïs ayant fait l'objet d'une caractérisation morphologique ou génétique par marqueurs SSR.

III Méthodologies mises en œuvre

Les protocoles d'extraction d'ADN utilisés dans les deux laboratoires sont différents :

1. Obtention des l'ADN génomiques

1.1. Germination des graines

Au niveau de la MBG un total de 300 graines a constitué le matériel végétal de base de notre étude, et ce, à raison de 20 graines par accession.

Les 300 graines de maïs sont mises à germer dans des boites de pétries tapissées de papier buvard imbibé avec de l'eau distillée. Les boites ainsiensemencées (20 graines par

boite) et sur lesquelles est inscrit le code de l'accension sont ensuite placées à l'étuve à une température de 26 °C. Un maximum de 16 graines ont germé par population (**figure 9**).

Au laboratoire LRGB de l'ENSA, la germination a porté sur 10 nouvelles accessions (30 graines par population) dont une a été perdue. Seules 15 graines parmi celles qui ont germées ont été retenues pour chaque accession.

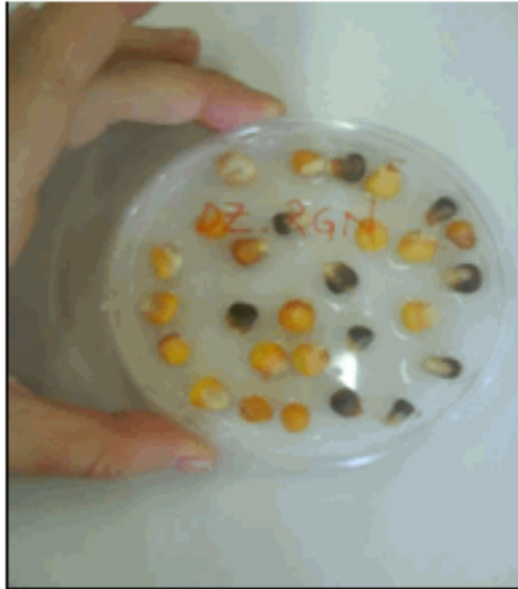


Figure 9: Boîtes de Pétrie d'une accession prête pour l'incubation.

1.2. Préparation des coléoptiles

Les graines qui ont germé, ont été débarrassées de leurs coléoptiles. 235 coléoptiles à la MBG et 135 au LRGB ont été sectionnés à l'aide d'une paire de ciseaux désinfectée avec de l'éthanol à 96°, et ce pour chaque graine germée. Cette précaution a été prise dans le but d'éviter toute contamination par l'ADN entre coléoptiles de graines différentes. Chaque coléoptile est directement et individuellement introduit, à l'aide d'une pince (désinfectée également), à l'intérieur d'un microtube (1,2 ml) puis fermé hermétiquement. Les microtubes ainsi pourvus en coléoptiles sont numérotés et codifiés comme pour les boîtes de Pétrie. Ils sont ensuite conservés au congélateur à -20 °C jusqu'à l'étape d'extraction de l'ADN.

1.3. Extraction des ADN génomiques

- Protocole suivi à la MBG

L'extraction de l'ADN des 235 graines de maïs a été réalisée selon le protocole de Liu et Whittier (1994) avec quelques petites modifications. L'extraction a été faite selon les étapes suivantes :

- Submerger le coléoptile, dans un microtube, dans 400 µl d'un tampon d'extraction (tableau 4).

Stock	Concentration finale	Pour 100ml
Tris HCl pH = 9,5	10 mM	1 ml
EDTA (0,5 mM)	10 mM	2 ml
KCl (2,5 M)	100 mM	4 ml
Saccharose (2 M)	0,5 M	25 ml
Mercaptoethanol	0,1%	0,1 ml
Sarcosyl (détergent) (20%)	2%	10 ml
QSP	Eau distillée	Pour 100 ml

Tableau 4 : Composition du tampon utilisé pour l'extraction de l'ADN

Remarque : On ajuste à 100 ml avec de l'eau distillée et la bouteille contenant le tampon doit être préalablement autoclavée (sans le tampon).

- Déposer à l'intérieur de chaque microtube, une petite bille de tungstène puis fermer le tube.
- Déposer les microtubes dans des plaques pouvant réceptionner chacune des 96 microtubes, elles sont également munies de couvercles pour bien fixer ceux-ci.
- Placer les plaques dans un broyeur à billes (30 vibrations/seconde pendant 3 min.), le coléoptile est alors complètement broyé.
- Centrifuger à 4000 rpm (rotations par minute) pendant 10 min pour éliminer la mousse formée lors de l'opération de broyage du coléoptile
- Ajouter 250 µl de phénol/chloroforme (v/v : 1/1), et centrifuger à 4000 rpm pendant 15 min.
- Transférer la phase aqueuse dans un nouveau microtube, y ajouter 500 µl de phénol/ chloroforme (v/v : 1/1) et centrifuger à 14.000 rpm pendant 4 min.
- Transférer la nouvelle phase aqueuse dans un nouveau microtube (souvent 300 à 350 µl).
- Ajouter du NaAc (acétate de sodium) : le volume à ajouter correspond au dixième du volume de la phase aqueuse, ce dernier étant déterminé lors du prélèvement avec une micropipette. Bien mélanger, rajouter 1 ml d'éthanol absolue (v/v : 1/1) et mettre le tube eppendorf au congélateur à -20 °C pendant 30min.
- Centrifuger pendant 4 min. à 14.000 rpm.
- Verser dans un bécher la phase liquide et renverser le tube sur du papier absorbant jusqu'à son dessèchement.
- Ajouter 1 ml d'éthanol à 70% (solution mère : 70 ml d'éthanol + 30 ml d'eau distillée)
- Centrifuger au maximum pendant 2 min. (14.000 rpm = 18.000 x g).
- Verser la phase liquide dans un bécher et renverser le tube une deuxième fois sur du papier absorbant et laisser sécher pendant 30 min.

- Observer, à ce stade, au fond du tube, la présence d'un peloton blanchâtre. Il s'agit de l'ADN extrait.
- Récupérer avec 100µl d'eau ultra pure ou de TE et maintenir à 4 °C (au minimum une nuit pour permettre la dilution de l'ADN dans l'eau de récupération jusqu'aux prochaines étapes). Il s'agit du volume stock.
- Prélever 25 µl du volume Stock (après passage au vortex) puis les déposer dans un nouveau tube eppendorf numéroté et codifié toujours.
- quantifier et diluer pour obtenir le volume de travail qui se préserve à 4 °C également.
- Protocole suivi au LRGB/ENSA

L'extraction de l'ADN génomique au LRGB a été réalisée à l'aide d'un kit d'extraction : NucleoSpin® Plant II, contenant :

- Un tampon de lyse PL1.
- Un deuxième tampon de lyse PL2 (contenant du SDS).
- Un tampon de précipitation PL3.
- Un tampon ligan des molécules d'ADN (binding buffer) PC.
- Un tampon de lavage PW1.
- Un deuxième tampon de lavage (concentré) PW2.
- Un tampon d'éluion PE.
- Une RNAase A lyophilisée permettant de dégrader les ARNs (la quantification photométrique se fera pour de l'ADN pur).
- Des filtres NucleoSpin® à anneaux violet.
- Des colonnes NucleoSpin® Plant II à anneaux verts.
- Une collection de tubes de 2ml dont le nombre est égale au nombre de colonnes et de filtres.
- Un manuel d'utilisation du Kit.

Ce Kit propose deux méthodes d'extraction différentes selon l'utilisation des tampons PL1 ou PL2 et PL3 ensemble. La méthode utilisant le PL1 est basée sur le CTAB dont la charge est positive alors que la méthode utilisant le PL2 + PL3 est basée sur le SDS dont la charge est négative. Ces deux méthodes permettent d'optimiser le rendement en ADN selon le matériel végétal utilisé. Chez certaines espèces de plantes, comme le maïs, les deux méthodes donnent des rendements similaires en ADN, mais dans la plupart des cas l'efficacité de la lyse des tissus diffère d'une méthode à l'autre à cause des charges négative et positive du SDS et du CTAB respectivement.

Avant d'entamer l'extraction de l'ADN génomique on doit préparer :

- Le PW2 concentré : ajouter, comme indiqué sur le flacon, 200 ml d'éthanol à 96 ou 100% en indiquant sur le flacon que l'éthanol fut ajouté et en inscrivant la date de dilution du tampon, car celui-ci sera stable à une température de 18-25 °C pour une durée d'au moins un an.
- La RNAase A lyophilisée : ajouter, comme indiqué sur le flacon, 750 µl d'eau distillée et conserver la solution à une température de 4 °C pour une durée de 3 mois et plus. Cependant, une conservation plus longue (supérieur a un an), le contenu du flacon est divisé en de petits aliquots et conservé à -20 °C.
- Le PL2 : réchauffer à une température de 30 à 40 °C et bien mélanger dans le but de dissoudre le SDS ayant précipité après une longue période de conservation.

- Le PE : celui-ci doit être préchauffé au bain-marie à 70 °C.

Pour l'extraction de l'ADN le protocole suivant a été adopté selon les instructions du manuel d'utilisation:

Le matériel ayant servi pour l'homogénéisation et le transfert dans les tubes eppendorf de la poudre obtenu d'un coléoptile doit être désinfecté par de l'éthanol à 96 ou 100% s'il doit être utilisé pour un autre coléoptile. La méthode basée sur le SDS à savoir celle combinant les deux tampons PL2 et PL3 a été adoptée. Les étapes d'extraction sont les suivantes :

- Broyage et homogénéisation des échantillons
 - Le coléoptile de chaque graine (d'environ 2 à 3 cm de long) est déposé individuellement dans un mortier et submergé d'azote liquide. Une fois congelé, il est réduit en une fine poudre puis transférée à l'aide d'une spatule, préalablement désinfectée, dans un tube eppendorf (1,5 ml).
- Lyse cellulaire par le tampon PL2
 - Ajouter 300 µl de PL2 et passer la mixture au vortex.
 - Additionner 10µl de solution de RNAase A et bien mélanger.
 - Mettre la suspension à incuber dans un bain-marie à 65 °C pendant 30 à 60 min.
 - Ajouter, ensuite, 75 µl de tampon PL3 et agiter bien le tout.
 - Mettre à incuber pendant 5 min. dans de la glace pour permettre la précipitation totale du SDS.
- Filtration et clarification du lysat brut
 - Placer un filtre NucleoSpin® à anneau violet sur un tube de 2 ml et renverser le lysat dans la colonne.
 - Centrifuger à 11000 x g pendant 5 min.
 - Récupérer le filtrat dans un nouveau tube eppendorf de 1,5 ml et le filtre NucleoSpin® est jeté.
- Ajustement des conditions de liaison de l'ADN à la membrane de silice
 - Ajouter au filtrat 450 µl de tampon PC et bien mélanger en vortexant.
- Liaison de l'ADN a la membrane de silice
 - Placer une colonne NucleoSpin® à anneau vert dans un tube de 2 ml et y verser un maximum de 700 µl de l'échantillon.
 - Centrifuger pendant 1 min. à 11000 x g et jeter le filtrat. L'ADN se trouve fixé à la membrane.
- Lavage de la membrane de silice
 - Premier lavage : Ajouter à la colonne NucleoSpin® 400 µl de tampon PW1, puis centrifuger 1 min. à 11000 X g et jeter le filtrat.
 - Deuxième lavage : Ajouter 700 µl de tampon PW2 à la colonne NucleoSpin®, puis centrifuger 1 min. à 11000 X g et jeter le filtrat.
 - Troisième lavage : Ajouter 200 µl de tampon PW2 à la colonne, puis centrifuger le tout 2 min. à 11000 x g et jeter le filtrat. Le but de ce dernier lavage est de se débarrasser de tout le tampon de lavage pour permettre le séchage de la membrane.

- Éluion de l'ADN :
 - Placer la colonne NucleoSpin® à anneau vert contenant la membrane liée à l'ADN extrait dans un nouveau tube eppendorf de 1,5 ml, numéroté en portant le code de l'accésion en question.
 - Ajouter sur la membrane de silice 50 µl de tampon d'éluion PE (à 70 °C) et laisser incuber la colonne au bain-marie à 70 °C pendant 5 min.
 - Centrifuger pendant 1 min. à 11000 X g pour éluer l'ADN.
 - Répéter cette étape une deuxième fois avec 50 autres µl de PE à 70 °C et éluer dans le même tube.
 - Suspendre l'ADN dans 100 µl de PE.
 - Stocker au congélateur à 4 °C.

2. Quantification de l'ADN

A la MBG, la quantification a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre pouvant réceptionner une plaque en plastique transparent formée de 96 puits ou mini-cuves. En d'autres termes, 96 échantillons sont passés à la fois pour la quantification de l'ADN.

L'ADN est récupéré dans de l'eau ultra pure, le blanc est représenté par 200µl d'eau ultra pure déposée à l'aide d'une micropipette multicanale, dans chacun des 96 puits de la plaque de quantification. Cette dernière, est placée dans le spectrophotomètre puis exposée à un rayon UV d'une longueur d'onde de 260 nm (longueur d'onde à laquelle l'ADN pure à un maximum d'absorbance). Les absorbances (DO) respectives de chaque puits ont été enregistrées sous forme de tableaux sur EXCEL.

L'eau ultra pure, dans les mini-cuves de la plaque, est ensuite remplacée par 5 µl d'ADN prélevés des 25 µl du volume de travail, déjà dilués dans 195 µl d'eau distillée. C'est une dilution de 5/200 autrement dit 1/40 (une dilution de 40 x). Les échantillons sont placés dans le spectrophotomètre puis exposés à la même longueur d'onde que l'eau ultra pure et les résultats (l'absorbance où DO) sont enregistrés de la même manière que pour le blanc.

Si l'ADN est trop concentré, il faut diluer d'avantage.

Pour calculer les absorbances de l'ADN des 235 coléoptiles, une nouvelle colonne (sur le tableau EXCEL), est affectée au calcul de la différence entre les valeurs obtenues avec les blancs et celles obtenues avec les échantillons

La quantité d'ADN en ng/µl est alors calculée pour chacun des 235 coléoptiles par la formule suivante :

$$Q_{ADN}(ng/\mu l) = DO_{260} \times \text{Facteur de dilution} \times 50$$

Où

- DO : Densité Optique ou absorbance caractéristique de chaque échantillon.
- Dilution : 40x
- 50 : coefficient d'extinction de l'ADN (ng/µl)

Connaître le volume restant est très important car nous devons y ajuster la quantité d'ADN dans le but d'avoir une concentration de 50 ng/µl ou de 100 ng /µl pour évaluer les volumes d'ADN à prendre pour la PCR et qui sont, selon les concentrations citées si dessus,

respectivement 2 µl ou 1 µl, car la concentration finale en ADN pour une réaction de PCR est de 100 ng/µl, d'où l'utilité de la quantification.

Lors de la quantification, la plupart des quantités d'ADN n'atteignaient pas les 100 ng/µl, nous avons donc décidé d'ajuster toutes les concentrations à 50 ng/µl en ajoutant un volume d'eau calculé préalablement (**Annexe 1**).

La formule à appliquer pour connaître le volume d'eau à ajouter pour obtenir la concentration désirée est obtenue à partir de :

C_1 : quantité d'ADN en ng/µl

V_1 : Volume d'ADN restant dans le volume de travail (varie selon le volume prélevé lors de la quantification)

C_2 : concentration désirée (50 ng/µl)

V_2 : Volume d'eau ultra pure à ajouter.

$$V_2 = \left(\frac{C_1 (Q \text{ ADN}) \times V_1}{C_2 (50)} \right) - V_1$$

Pour la quantification et l'ajustement au niveau du LRGB (**annexe 1**), un spectrophotomètre ne pouvant réceptionner que 8 cuves à la fois dont une réservée pour le blanc a été utilisé (**Annexe 4**). L'enchaînement des étapes reste le même que pour la quantification et l'ajustement effectué à la MBG.

3. Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La PCR permet, à l'aide d'un thermocycleur (**Annexe 4**), d'amplifier des séquences d'ADN bien précises (marqueurs moléculaires ou autres séquences du génome). Pour les marqueurs SSR des couples de primer (Forward et Reverse) sont utilisées.

Dix huit paires de primers (F = forward et R = reverse) (**tableau 5**), ont été utilisées à la MBG. Ces derniers ont été choisis premièrement, de manière à ce qu'ils soient distribués sur les 10 chromosomes et deuxièmement parce qu'ils ont déjà servi pour des études similaires à la notre mais sur des accessions de maïs espagnoles et américaines. Le choix des 18 primers n'est pas fortuit puisqu'il nous permettra de comparer les résultats de cette étude avec ceux obtenus avec d'autres travaux en vue d'une étude phylogénétique.

Les primers sont fournis sous une forme lyophilisée et doivent être dilués avec du TE (Tris 10 mM à pH = 8 et EDTA 0,1 mM pH = 8). Le volume de TE à ajouter diffère d'une amorce à une autre comme nous pouvons le remarquer sur le document descriptif accompagnant les primers. Tous les primers doivent être à une concentration de 100 µM. Pour cela nous sommes passés par les étapes suivantes :

Préparation du TE (Tris 10 mM pH = 8 / EDTA 0,1 mM pH = 8) pour 50 ml :

- préparation du Tris 1M à pH = 8 pour 100 ml :
- Peser 12,1 g de Tris et le diluer dans 50 ml d'H₂O distillée. Ajuster le pH à 8 avec de l'HCl (4,9 ml d'HCl pour obtenir un pH = 8). Ajuster le volume à 100 ml avec de l'eau distillée.

Utilisation des marqueurs SSRs pour l'étude de la diversité génétique de quelques populations algériennes de maïs (*Zea mays* L.)

- Préparation de l'EDTA à 0,5 M à pH = 8 pour 100 ml :
- Peser 18,612 g d'EDTA et le diluer dans 80 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 8 avec du NaOH et compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml.
- Pour obtenir un TE (Tris 10 mM pH=8 et EDTA 0,1 mM à pH=8) pour un volume total de 50 ml nous prélevons 0,5 ml (500 µl) de tris 1M à pH = 8 que l'on ajoute à 0,1 ml (100 µl) d'EDTA 0,5 M puis on ajuste à 50 ml.

Chaque amorce, dans son tube d'origine, recevra la quantité requise en TE pour atteindre la concentration stock de 100 µM. Cependant, la concentration de travail n'est pas la même, donc nous devons constituer un autre lot de tubes, sur lesquels il faut noter le nom ou le numéro de chaque primer, et qui réceptionneront les concentrations de travail, qui sont de 10 µM, pour chaque amorce, individuellement. Pour cela il faut, après un passage au vortex, prélever 10 µl de chaque solution stock et ajouter 90 µl d'eau distillée.

Bin.*	Nom	Séquence	Motif	Taille des fragments attendus
2.09	bnlg1520F	TCCTCTTGCTCTCCATGTCC	(AG) ₂₂	175-200
	bnlg1520R	ACAGCTGCGTAGCTTCTTCC		
6.07	bnlg1740F	TTTTCTCCTTGAGTTCGTTCCG	(AG) ₂₁	125-200
	bnlg1740R	ACAGGCAGAGCTCTCACACA		
9.03	phi027F	GCGTACGTACGACGAAGACAC	(GCGCT) _n	135-145
	phi027R	CACAGCACGTTGCGGATTTCTCT		
3.04	phi036F	CCGTGGAGAGACGTTTGACGT	(AG) _n	< 100
	phi036R	TCCATCACCCTCAGAATGTCAGTGA		
10.02	phi059F	AAGCTAATTAAGGCCGGTCATCCC	(ACC) _n	> 150
	phi059R	TCCGTGTA CTGGCCGACTC		
2.08	phi127F	ATATGCATTGCCTGGA ACTGGAAGGA	AGAC	100-125
	phi127R	AATTC AAACACGCCTCCCGAGTGT		
2.01	umc1165F	TATCTTCAGACCCAAACATCGTCC	(TA) ₄	150-175
	umc1165R	GTCGATTGATTTCCCGATGTTAAA		
1.01	umc1222F	CTCAGAACAGAAGCCATCAAAAAGC	(AG) ₂₀	125-200
	umc1222R	CGTCTTCGTGAGAGACATCCTGT		
5.08	umc1225F	CTAGCTCCGTGTGAGTGAGTGAGT	(AG) ₄	75-125
	umc1225R	TTCTTCTTTCTTTCTGTGCAAC		
2.02	umc1265F	GCCTAGTCGCCTACCCTACCAAT	(TCAC) ₄	100-125
	umc1265R	TGTGTTCTTGATTGGGTGAGACAT		
8.01	umc1327F	AGGGTTTTGCTCTTGGAATCTCTC	(GCC) ₄	50-100
	umc1327R	GAGGAAGGAGGAGTCTGATCGT		
4.06	umc1329F	CCTCTCACATCTCCTCTCCCT	(GCC) ₇	75-100
	umc1329R	GTGTCGGTGTAGGTCTCCGTCTT		
1.06	umc1335F	ATGGCATGCATGTGTTTGT TTTAC	(AG) ₂₄	100-150
	umc1335R	ACAGACGTGCTAATTCCTGAAAG		
1.03	umc1403F	GTACAACGGAGGCATTCTCAAGTT	(GCA) ₄	125-150
	umc1403R	TGTACATGGTGGTCTTGTTGAGGT		
6.06	umc1424F	CCGGCTGCAGGGGTAGTAGTAG	(TCC) ₇	100-150
	umc1424R	ATGGTCAGGGGCTACGAGGAG		
7.00	umc1545F	GAAAAC TGCATCAACAACAAGCTG	(AAGA) ₄	75-100
	umc1545R	ATTGGTTGGTTCTTGCTTCCATTA		
4.04	umc1963F	CTCGTTCCGAGGGGATGTACAAG	(AGC) ₃	125
	umc1963R	CTTGCACTGGCACAGAGACG		
8.03	umc1984F	CTCTGGCCTCTGATACCAGTTGAT	(CAG) ₃	75-100
	umc1984R	CATCCTCCTGCAGCTGTTAACTC		

Tableau 5 : Liste des 18 paires de primers utilisés pour notre caractérisation génétique

(www.Maizegdb.org).

Bin* : position des microsatellites sur les chromosomes (**Annexe 3**).

La réaction de PCR a été réalisée en préparant le mix (**tableau 6**). Cette composition n'est pas fixe pour tous les protocoles, car elle dépend du type de produits (kits), de leur concentration initiale et finale, de la quantité d'ADN et enfin du volume de PCR choisi (de 20 à 50 µl). Dans notre cas le volume du mix est de 20 µl par réaction.

composition	[] initiale	Pour 20µl
Tampon réactionnel* avec MgCl₂	10 x	2,0 µl
dNTP stabilisés	10 mM	0,4 µl
Forward Primer	10 µM	0,8 µl
Reverse Primers	10 µM	0,8 µl
AND génomique	100 ng/µl	2,0 µl
Taq DNA Polymérase	5 unités/µl	0,2 µl
QSP: H₂O ultra pure	/	13,8 µl
Volume total		20.0 µl

Tableau 6: composition d'un mix de 20µl pour une seule réaction PCR.

(*) Le tampon réactionnel est composé de : KCl à 500 mM, Tris HCl à 100 mM (pH 9,0 à 25° C), MgCl₂ à 15 mM, Triton X-100 à 1% et des stabilisants.

Le mix doit être bien mélangé à l'aide de micropipettes ayant servi pour les prélèvements. De plus, le tout doit être préparé dans un bac à glace, car les primers doivent rester à basses températures, de même pour la *Taq*. Cette dernière est de couleur verte, du coup la mixture gardera cette couleur même après la PCR, chose qui facilitera l'étape de l'électrophorèse, dans ce sans où lors de la migration des amplifias il sera facile de suivre le front de migration.

Les plaques ou tubes de PCR (V = 0,2 ml) contenant le mix sont introduits dans le thermocycleur pour subir le programme de PCR (**tableau 7**).

Au niveau du LRGB, l'étape de la PCR n'a pas été réalisée pour les neuf autres accessions de maïs, et ce, faute de moyens adéquats pour la gestion des déchets générés par ce type de manipulation.

Étape	Nombre de cycle	Température	Temps
Dénaturation initiale	1	95 °C	5 min.
Dénaturalisation		95 °C	30 s.
Hybridation	35	56 °C	30 s.
Extension		72 °C	30 s.
Extension finale	1	72 °C	10 min.
Conservation	1	4 °C	Infini.

Tableau 7: Programme PCR spécifique aux microsatellites

4. Électrophorèse verticale sur gel d'acrylamide

4.1. Description de l'unité électrophorétique

L'unité électrophorétique utilisée (cuve verticale DASG-400-50, C.B.S. Scientific Co), maintient deux gels verticalement et possède une base rotative pour faciliter l'accès aux deux gels. Les deux gels peuvent être utilisés simultanément ou indépendamment l'un de l'autre. Ces derniers sont coulés entre deux plaques de verres de 50 cm de longueur et 22 cm de largeur. Les plaques sont dotées de coins supérieurs arrondis et sont transparentes aux UV permettant ainsi la visualisation des gels sans désassembler le système en sandwich (les 2 plaques + le gel). Ceci permet de réutiliser le même gel 4 à 5 fois, après élimination complète des traces d'ADN de l'essai précédent en rebranchant l'appareil au générateur de courant jusqu'à la sortie de toutes les bandes. Cette procédure permet d'économiser l'acrylamide et le temps. Chaque gel, peut recevoir un maximum de 100 échantillons, et les puits sont espacés entre eux d'une distance de 4,5 mm (Wang et al., 2003) (Annexe 4).

4.2. Préparation du gel

- Préparer une solution mère de TBE (5x) : Tris base, Acide Borique et EDTA dans le but d'avoir une concentration de TBE (1x). Pour cela il faut :
 - Peser 54g de Trizma base, 27,5g d'acide borique et 20 ml d'EDTA à 0,5M (pH=8) et ajuster le volume à un litre.
- Prélever 200 ml de TBE (5x) aux quels on ajoute 800 ml d'eau distillée pour avoir du 1 litre de TBE (1x).
- Prélever 160 ml de TBE (1x) puis verser dans un bécher au quel on ajoute 28,5 ml d'acrylamide : bisacrylamide 19 : 1 à 40%. Introduire un barreau et soumettre à une faible agitation.
- Peser 0,1500 g de PSA (ou APS en anglais), le déposer dans un tube eppendorf et compléter avec de l'eau distillée à 1500 µl. Prendre, en suite, 1350 µl de dilution APS et l'ajouter au TBE et acrylamide tout en continuant l'agitation.
- Ajouter à la mixture 150 ml de TEMED. Bien mélanger le tout.

Le gel ainsi prêt, est coulé entre les deux plaques à l'aide d'une grosse seringue, tout en prévenant la formation de bulles d'air qui pourraient entraver le passage du courant électrique empêchant ainsi la migration des amplifias. Un peigne fin, à 100 dents est introduit

entre les deux plaques, juste après avoir coulé le gel pour former, lors de sa polymérisation, 100 puits.

Après polymérisation totale, le peigne sera retiré délicatement et le gel pris en sandwich entre les deux plaques de verre et placé dans la cuve électrophorétique est prêt à être employé. La cuve est remplie à la base d'un tampon d'électrophorèse : TBE (1x), dans lequel sont ajoutés 50µl de Bromure d'Ethidium pour révéler les amplifias d'ADN ayant migré, par fluorescence lorsque les plaques avec le gel seront exposés aux UV produits par le trans-illuminateur.

4.3. Dépôt des échantillons et révélation des amplifias

Le dépôt est réalisé à l'aide d'une micropipette multicanale, 10 µl de 8 amplifias peuvent être prélevés en une seule fois et déposés délicatement, de gauche à droite, dans les puits. Les 235 amplifias par couple d'amorces ont été déposés sur 3 gels différents chacun pouvant réceptionner 96 amplifias. A l'extrémité droite de chaque gel, dans l'un des derniers puits, on dépose un marqueur de PM (**Annexe 4**).

Le gel, une fois placé dans le tampon TBE (1x), la cuve sera branchée à un générateur de courant électrique réglé à 250 volts pendant 150 minutes.

Après la migration, les gels sont exposés à une lampe UV placée dans une chambre noire (**Annexe 4**). Cette dernière est munie d'un appareil photo de type Polaroid placé au dessus de la lampe UV, il permet de prendre instantanément un cliché du gel illuminé par les UV (2 clichés pour chaque gel). Au totale 5 profils électrophorétiques sont obtenus pour chaque couple d'amorce.

4.4. Lecture des gels

Pour chaque couple d'amorce (ou locus), la lecture est faite sur les profils électrophorétiques qui lui sont associés. Les SSR étant des marqueurs co-dominants, il est indispensable de différencier entre individus homozygotes ne présentant qu'une seule bande (1 allèle) et individus hétérozygotes présentant deux bandes (2 allèles) étant donné que le maïs est diploïde. Ainsi, un système à deux chiffres est mis en place pour génotyper les 235 individus par chacun des 18 loci (ou couple d'amorce).

Par exemple, si le premier individu du profil est hétérozygote on marque sur un tableau préalablement dessiné, 1 2, car il s'agit des deux premiers allèles pour ce premier locus, si le deuxième individu est homozygote et que ses allèles se trouvent au même niveau (donc de même poids moléculaire) que l'allèle 1 ou l'allèle 2 on marque 1 1 ou 2 2 et si on trouve un autre allèle à un niveau différent de l'allèle 1 ou de l'allèle 2 on marque 3 tout en respectant le génotype (homozygote ou hétérozygote). En continuant à suivre le niveau des allèles en se référant aux marqueurs de poids moléculaire nous pouvons établir le génotype de chacun des individus des 15 accessions étudiées et pour tous les loci.

5. Analyse des données

5.1. Caractérisation morphologique

5.1.1.L'analyse en composantes principales (ACP)

Les résultats de la description morphologique des 24 accessions à l'aide des trois descripteurs qualitatifs (type d'épi, couleur et type de grain), ont permis de faire une Analyse

en Composantes Principales (ACP). L'ACP va permettre de connaître la relation existante entre les descripteurs morphologiques considérés et les similitudes entre les accessions (**Bautista-Salas, 2009**). C'est une méthode fondamentale en statistique descriptives multidimensionnelle, elle permet de traiter simultanément un nombre quelconque de variables toutes quantitatives (ou qualitatives avec recodage selon une échelle numérique).

L'objectif de l'ACP est de revenir à un espace de dimension réduite en déformant le moins possible la réalité. Il s'agit donc d'obtenir le résumé le plus pertinent possible des données initiales (**Baccini, 2010**). Le programme calcule la matrice des covariances, la diagonalise, en extrait les valeurs et vecteurs propres. Les vecteurs propres de la matrice définissent les axes factoriels. Les données du tableau réduit sont ensuite projetées sur ces axes. Les coefficients de corrélation étant toujours compris entre -1 et +1, le programme affiche le cercle de corrélation (**Lazrek-Ben friha, 2008**).

5.1.2. Classification ascendante hiérarchique des accessions

L'objectif de cette analyse est de classer l'ensemble de 25 accessions en un nombre réduit de groupes ou clusters, où la formation de ces groupes peut obéir à des caractéristiques communes aux accessions (**Bautista-Salas, 2009**).

C'est deux analyses ont été réalisées grâce au logiciel Xlstat, version 2010.

5.2. Caractérisation génétique

Pour analyser la variabilité génétique des 15 accessions locales de maïs nous avons utilisé les fréquences alléliques p_i , les fréquences génotypiques, le nombre d'allèles par locus (**A**) et le nombre de loci polymorphiques (**Ap**), l'hétérozygotie espérée H_e et celle observée H_o , le coefficient de consanguinité **f**, les indices de fixation de Wright : **Fst**, **Fis**, et **Fit** ainsi que les distances génétiques.

A partir du tableau de lecture des gels, les fréquences alléliques et génotypiques sont calculées à l'aide du logiciel GENEPOP version 4.1 élaborée par **Rousset (2008)** et qui est disponible à l'adresse électronique suivante : <http://genepop.curtin.edu.au/>. Les fréquences alléliques ont été calculées selon la formule suivante :

Si l'on dénombre n_i copies du **ième** allèle dans un échantillon, la fréquence estimée $\sim p_i$ de cet allèle est:

$$\sim p_i = \frac{n_i}{2n}$$

Où **n** est le nombre d'individus de l'échantillon pour un locus diallélique en équilibre de Hardy – Weinberg (**EHW**).

A l'aide du logiciel GDA : Genetic Data Analysis version 1.1 (**Lewis et Zaykin, 2002**), disponible à l'adresse : <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html> nous avons calculé d'autres paramètres :

- Taux d'hétérozygotie espérée (H_e) se basant sur la formule suivante :

$$H_e = 1 - \sum (p_i)^2$$

p_i est la fréquence au $i^{\text{ème}}$ allèle pour un locus donné.

- Hétérozygotie observée H_o a été calculée à partir des fréquences génotypiques.
- Pourcentage de locus polymorphes : il correspond au nombre de loci polymorphes par rapport au nombre totale de loci analysés.
- Nombre d'allèles par locus (**A**), selon la formule suivante :

$$A = \frac{\text{nombre total d'allèles}}{\text{nombre de loci}}$$

- Nombre d'allèles par locus polymorphique (**Ap**) selon la formule suivante :

$$A_p = \frac{\text{nombre total d'allèles}}{\text{nombre de loci polymorphes}}$$

- Indices de fixation de Wright :

Les indices de fixation de Wright : **Fis**, **Fit** et **Fst**, rendent compte des différences entre populations.

- L'indice **Fis** est défini par la relation suivante:

$$F_{is} = \frac{H_s - H_i}{H_s}$$

- L'indice **Fst** est calculé à partir de la formule suivante :

$$F_{st} = \frac{H_t - H_s}{H_t}$$

- L'indice **Fit** est obtenu par la relation ci dessous :

$$F_{it} = \frac{H_t - H_i}{H_t}$$

Les trois indices sont reliés par la formule ci après :

$$(1 - F_{it}) = (1 - F_{is})(1 - F_{st})$$

Si toutes les sous-populations sont bien à l'équilibre de Hardy – Weinberg, on aura **Fis**=0 et par conséquent **Fst** = **Fit**. Par ailleurs, si elles sont toutes à l'équilibre de Hardy – Weinberg et ont les mêmes fréquences alléliques, alors les trois indices seraient nuls. Dans

ce cas, le classement en sous-populations ne sera pas possible et la population globale est alors en équilibre de Hardy – Weinberg. (**Nei, 1973**).

- Pour la distance génétique (GD) nous avons utilisé celle de Nei (1978).

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

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.

- Le dendrogramme a été dessiné à partir de la matrice des distances génétiques par le même logiciel (GDA) suivant l'algorithme UPGMA.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I Résultats

1. Caractérisation morphologique des accessions de maïs

1.1. Description morphologique

Parmi les 24 accessions collectées et ayant fait l'objet de la présente étude, 21 ont été multipliées en Avril 2011 au niveau de la station expérimentale de l'ENSA. Les photographies (sur fond bleu) de la figure 10 permettent d'apprécier la grande diversité morphologique des épis et des grains des 21 accessions. Les épis et grains des 3 autres accessions qui n'ont pas été multipliées sont représentés sur un fond blanc (**Figure 10**).



Figure 10: planche représentant la forme et la couleur du grain des 24 accessions de maïs.

Les caractères ou descripteurs morphologiques pris en considération dans cette étude sont au nombre de trois : forme de l'épi, type de grain et couleur du grain (**tableau 8**). Les résultats consignés dans ce tableau permettent de souligner la prédominance de la forme conique pour les épis. Effectivement, 18 accessions sur 24 présentent des épis de forme conique soit 75%, 5 ayant des épis cylindriques (BSA, IGR, KST, LOM et MGH) soit 20.8% et 1 présentant les deux types de forme conique et cylindrique (KHL) soit 4.2% (**tableau 9**).

Accessions	Forme de l'épi	Type de grain	Couleur du grain	Accessions	Forme de l'épi	Type de grain	Couleur du grain
AAS	Conique	Lisse/denté	Jaune	KST	Cylindrique	Lisse	Jaune-orange
BAB	Conique	Lisse	Jaune/orange	LAH	Conique	Lisse	en ségrégation
BSA	Cylindrique	Lisse	en ségrégation	LOM	Cylindrique	Lisse	Jaune
BTM	Conique	Lisse	Jaune-orange	MGM	Cylindrique	Lisse	en ségrégation
FEZ	Conique	Lisse	Jaune	MST	Conique	Lisse	en ségrégation
GHM	Conique	Lisse	Orange	OBC	Conique	Lisse	Jaune
GOL	Conique	Lisse	en ségrégation	OST	Conique	Lisse	Jaune-orange
IGR	Cylindrique	Lisse	Jaune-orange	SHH	Conique	Lisse	en ségrégation
IGS	Conique	Lisse	Jaune-orange	TAO	Conique	Lisse	Jaune-orange
ILT	Conique	Lisse/denté	Jaune/orange	TBN	Conique	Lisse	Jaune-orange
KAL	Conique	Lisse	Jaune	TGN	Conique	Lisse	Jaune
KHL	Conique/cylindrique	Lisse	Jaune-orange	TKR	Conique	Lisse/denté	Jaune

Tableau 8: caractérisation morphologique des 24 accessions étudiées.

Par ailleurs, les graines des 24 accessions sont en majorité de type lisse (83,3%) sauf pour les accessions AAS, ILT et TKR pour lesquelles les graines appartiennent aux deux formes lisses et dentées (16,7%). Quant à la couleur des grains, 41,6% ont une couleur jaune-orange, 33,3 % des accessions ont des grains de couleur jaune, 25% ont une couleur en ségrégation (grains de différentes couleurs) et 4,1% ont une couleur orange (**tableau 9**).

Couleur du grain	Jaune	Orange	Jaune/orange	En ségrégation
%	33,3	4,1	41,6	25
forme du grain	Lisse		Lisse et denté	
%	83,3		16,7	
Forme de l'épi	Conique	Cylindrique	Conique/Cylindrique	
%	75%	20,8	4,2	

Tableau 9 : synthèse des caractères morphologiques (%)

1.2. Analyse en composante principale (ACP)

L'ensemble des données morphologiques a permis de ressortir 3 facteurs. Les deux facteurs principaux F1 et F2 expliquent 74,32 % de la variabilité totale (F1 avec 46,52 % et F2 avec 27,80 %) (**figure 11**).

1.2.1 Contributions des variables

Les vecteurs propres obtenus dans le cercle de corrélation permettent de connaître les variables liées à chaque facteur. Les 3 variables contribuent de manières différentes dans le cercle de corrélation (**tableau 10 et figure 11**).

Le facteur 1 (F1), le plus important, est affecté par le type de grain lisse/denté qui contribue à 36,38 % à cet axe (**tableau 10**) et la variable couleur du grain y contribue avec un taux de 33,394 %. Le facteur 2 (F2) est déterminé majoritairement par la forme de l'épi cylindrique avec 63,99 % alors que le caractère type de grain n'y contribue presque pas (3,271 %). Cependant la couleur du grain contribue à cet axe avec 32,737 % (**tableau 10**).

La variable type de grain s'oppose aux variables couleur du grain et forme de l'épi selon l'axe F1. Effectivement l'axe F1 est corrélé positivement avec le type de grain (lisse/denté) (0,713) et négativement avec la forme de l'épi (cylindrique) (-0,649) et la couleur du grain (en ségrégation) (-0,683) (**Tableau 10**). Cela veut dire que les accessions ayant un type de grain différent de la majorité des autres accessions (type lisse/denté) ou en d'autres termes, les accessions étant la source de variabilité pour ce caractère seront regroupées ensemble, et que les accessions ayant des épis cylindriques avec des grains de couleurs en ségrégation leur seront opposées

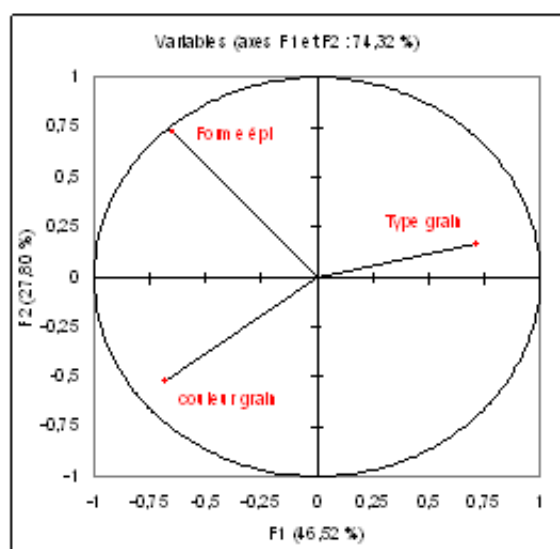


Tableau 10 : Corrélations entre variables et facteurs et contribution des variables

Vecteurs propres :

	F1	F2	F3
Forme épi	-0,560	0,800	0,241
Type grain	0,603	0,181	0,777
couleur grain	-0,578	-0,572	0,582

Corrélations entre les variables et les facteurs :

	F1	F2	F3
Forme épi	-0,649	0,731	0,211
Type grain	0,713	0,165	0,682
couleur grain	-0,683	-0,522	0,511

Contributions des variables (%) :

	F1	F2	F3
Forme épi	30,218	63,992	5,790
Type grain	36,388	3,271	60,341
couleur grain	33,394	32,737	33,869

Figure 11 : Cercle de corrélation entre les variables caractérisant la forme de l'épi, le type et la couleur du grain des 24 accessions : Plan F1-F2

Le caractère forme de l'épi s'oppose à la couleur du grain selon l'axe F2, car ce dernier est corrélé positivement avec la forme de l'épi (cylindrique) (0,731) alors qu'il est négativement avec la couleur du grain (en ségrégation) (-0,522). Il faut noter que cet axe n'est que peu corrélé avec la variable type de grain (0,165) (**tableau 10**). Cela signifie que les accessions responsables de la variabilité pour le caractère forme de l'épi (accessions à épis cylindriques), qui ont le même type de grains mais qui ne présente pas de couleur de grain en ségrégation seront, normalement, très proches. De plus, ces accessions devraient être opposées, selon l'axe F2 aux accessions ayant des grains en ségrégation de couleurs mais n'ayant pas d'épis cylindrique.

1.2.2. Contributions des accessions

Le **tableau 11** et la **figure 12** confirment que les résultats obtenus pour la répartition des accessions selon les deux axes correspondent aux résultats attendu si dessus. Ils montrent une répartition des accessions en 5 groupes dont 4 qui se distinguent clairement les unes des autres.

Nous pouvons observer que le regroupement des accessions s'est fait au tour d'un centre d'inertie qui regroupe les populations : FEZ, KAL, OBC, TGN, BTM, IGS, OST, TAO, TBN, BAB, GHM et KHL. Ces populations sont les plus proches de l'origine et des deux axes et cela veut dire qu'elles ont les caractères les plus communs avec l'ensemble des accessions (**tableau 11**).

L'axe 1 caractérise et oppose deux groupes, 1et 2, totalisant 5 accessions:

- Le premier groupe est constitué des accessions AAS, TKR et ILT elles se caractérisent toutes par des grains de type lisse/denté, des épis de formes conique et des grains de couleur jaune et jaune-orange.
- Le deuxième groupe est constitué des accessions BSA et MGH qui s'oppose au premier groupe par l'axe F1 signifiant que les accessions à grain lisse/denté s'opposent aux accessions ayant des épis cylindriques et des graines en ségrégation comme cela fut prédit dans l'interprétation des résultats de corrélation des variables avec les facteurs.

L'axe 2 caractérise et oppose deux autres groupes, 3 et 4, totalisant 7 accessions :

- Le troisième groupe, constitué par l'agrégation des accessions IGR, KST et LOM se caractérisant toutes par une forme cylindrique des épis et des grains de type lisse et de couleur jaune ou jaune orange.
- Le groupe GOL, LAH, MST et SHH constitue le quatrième groupe. Ce groupe s'oppose au troisième groupe par l'axe F2. Par conséquent les accessions se caractérisent toutes par des grains en ségrégation de couleur et ayant des épis de forme conique et des grains de type lisse.

Le Plan F1-F2 ne permet cependant pas de discriminer les 12 autres populations FEZ, KAL, OBC, TGN, BTM, IGS, OST, TAO, TBN, BAB, GHM, KHL qui constituent le centre d'inertie. D'autres variables seraient peut être nécessaires pour les discriminer.

Tableau 11 : tableau de Contribution des observations (%) au niveau des axes F1, F2 et F3

Populations	F1	F2	F3	populations	F1	F2	F3
BSA	15,771	1,246	7,557	FEZ	0,496	0,103	3,203
MGH	15,771	1,246	7,557	KAL	0,496	0,103	3,203
AAS	14,866	0,812	13,489	OBC	0,496	0,103	3,203
TKR	14,866	0,812	13,489	TGN	0,496	0,103	3,203
ILT	14,707	0,764	13,697	BTM	0,467	0,121	3,103
IGR	2,770	16,577	0,143	IGS	0,467	0,121	3,103
KST	2,770	16,577	0,143	OST	0,467	0,121	3,103
LOM	2,701	16,795	0,165	TAO	0,467	0,121	3,103
GOL	2,636	10,912	1,865	TBN	0,467	0,121	3,103
LAH	2,636	10,912	1,865	BAB	0,467	0,121	3,103
MST	2,636	10,912	1,865	GHM	0,226	0,378	2,190
SHH	2,636	10,912	1,865	KHL	0,221	0,003	2,676

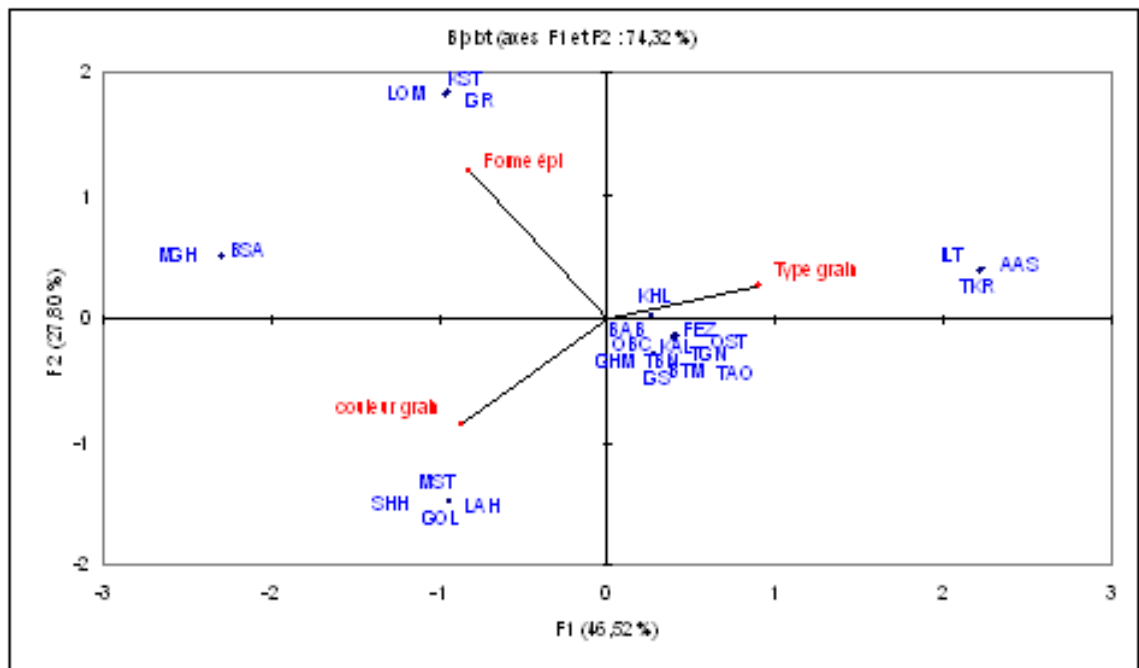


Figure 12 : Représentation graphique des 24 accessions sur le plan 1-2 de l'ACP des 3 variables caractérisant l'épi la couleur et le type de grain.

1.3. Classification ascendante hiérarchique des accessions

La **figure 13** représentant la classification hiérarchique selon les distances euclidiennes de dissimilarité basée sur la méthode d'agrégation des liens complets confirme dans une certaine mesure les résultats de l'ACP. En effet, seulement 3 agrégats distincts sont mis en évidence.

- Le premier agrégat est constitué de BSA, MGH, SHH, LAH, MST et GOL, dont les accessions sont toutes caractérisées par des grains lisses et en ségrégation de couleur. Cependant, la forme de leurs épis est conique ou cylindrique. Ce premier agrégat semble donc être plus caractérisé par la morphologie du grain que par la forme de l'épi.
- Le deuxième agrégat est constitué de LOM, IGR et KST dont les accessions sont toutes caractérisées par des épis de types cylindriques, des grains lisses et de couleur jaune ou jaune orange.
- Le troisième agrégat, est constitué du reste des accessions. Ce même agrégat est lui-même constitué de 3 sous agrégats.
 - Le premier agrégat constitué de l'unique accession GHM à épis coniques, grains lisses et la seule à présenter une couleur orange,
 - Le deuxième agrégat est constitué des accessions TKR, AAS, KAL, FEZ, OBC et TGN, qui sont toutes à épis coniques à grains jaunes et de type lisses (KAL, FEZ, OBC) ou denté/lisse (AAS et TKR).
 - Le troisième agrégat est constitué des accessions BTM, BAB, IGS, OST, TAO et TBN qui sont toutes à épis coniques, et grains lisses et jaune-oranges, l'accession ILT (à épi conique, grains jaunes-orange de forme lisse dentée) et l'accession KHL (grains lisses et jaunes-orange mais à épi conique/cylindrique).

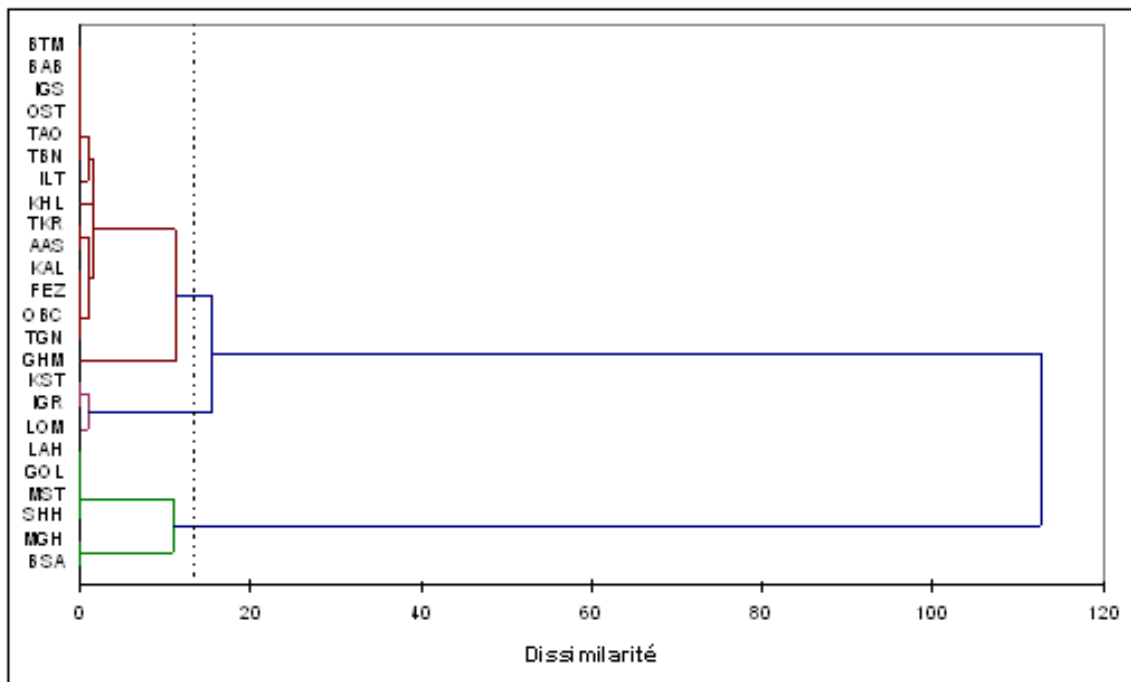


Figure 13: Classification hiérarchique ascendante des 24 accessions basées sur les caractères de l'épi et du grain .

2. Obtention de l'ADN génomique

2.1. Germination des graines et préparation des coléoptiles

Les coléoptiles sont prélevés sur les jeunes semis (**figure 14**). Après 3 jours d'incubation, la majorité des graines germent, les autres peuvent mettre 5 à 6 jours pour germer. Le taux de germinations varie en fonction des accessions. Un minimum de 15 jeunes semis bien constitués est retenu pour chaque accession pour servir à l'extraction de l'ADN sauf pour les accessions MGH et KAL avec 14 et 13 graines germées respectivement.

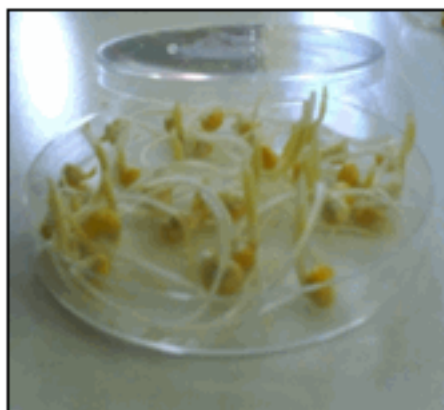


Figure 14: graines d'une accession ayant germé.

2.2. Résultats de l'extraction de l'ADN génomique

Les deux méthodes d'extractions de l'ADN adoptées à la MBG et au LRGB sont différentes. Les concentrations en ADN ont été calculées en ng/ μ l à partir des DO pour les individus des 15 accessions. La concentration la plus élevée est observée pour l'individu 10 de l'accession BTM avec une concentration s'élevant à 4970 ng/ μ l et la plus basse est remarquée chez l'individu 9 de l'accession OST.

Globalement, les meilleurs rendements en ADN génomique purs sont obtenus avec les accessions prélevées dans la partie Nord de la zone de collecte (**figure 15**) avec des rendements moyens supérieurs à 750 ng/ μ l. Il s'agit des accessions : BTM, SHH, LOM, OBC, MGH et GOL. Les différences en concentrations d'ADN génomique pur sont essentiellement dues à la quantité de la matière fraîche utilisée qui correspond à la taille des coléoptiles qui varient d'un individu à l'autre, mais aussi d'une accession à une autre. Les accessions du Nord de l'aire de collecte fournissent de jeunes semis avec des coléoptiles bien plus développés que ceux du Sud de l'aire de récolte.

La quantification faite sur les ADNs extraits au LRGB sur 9 populations dont seulement 2 sont originaires de la partie Nord de l'aire de collecte, confirme les résultats précédents. En effet, même s'il ne s'agit pas du même protocole d'extraction, les quantités d'ADN extraites à partir des coléoptiles de ces accessions restent faibles. Globalement, les accessions du Sud de l'aire de collecte ne fournissent pas de jeunes semis de qualité, d'où les faibles quantités d'ADN observées (**figure 16**).

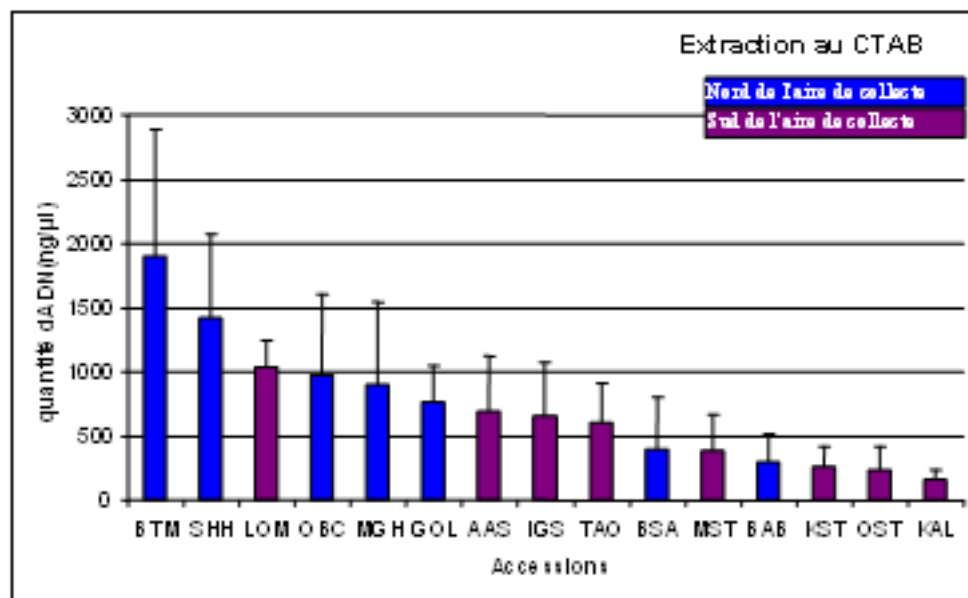


Figure 15: Quantités moyennes d'ADN extraits par accession selon la méthode du CTAB.

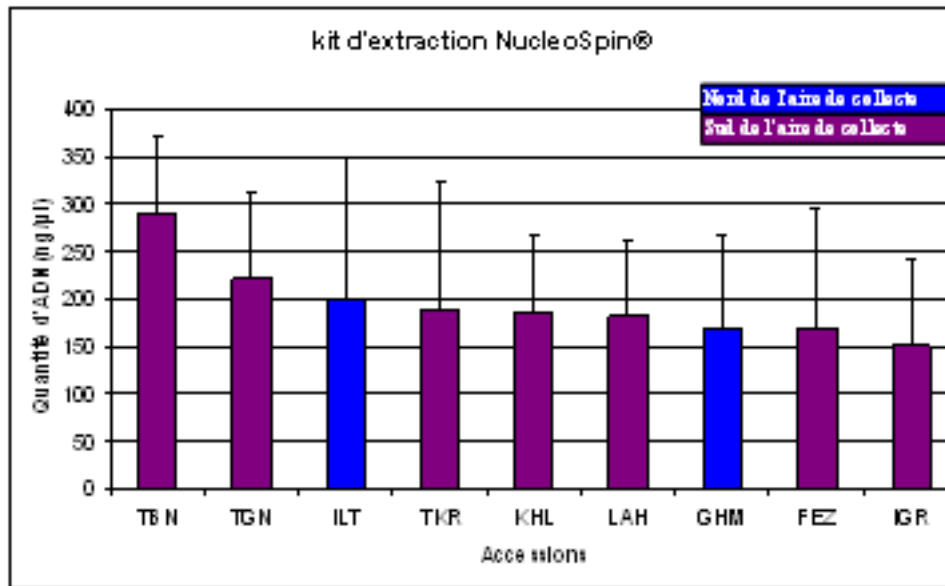


Figure 16: Quantités moyennes d'ADN extraits par accession par le kit Nucleospin®

3. Réaction de polymérisation en chaîne PCR

Un total de 4230 réactions de PCR (15 accessions x 18 marqueurs SSR x 16 répétitions (16 individus par accession sauf pour 2 d'entre elles : **MGH** et **KAL** avec **14** et **13** graines respectivement)) a été réalisé dans des plaques de PCR en silicones constituées de 96 puits. Ainsi, 96 échantillons (96 réactions) sont amplifiés à la fois.

4. Electrophorèse

Tous les gels obtenus sont numérisés. Au total 90 clichés, à raison de 5 profils électrophorétiques pour chaque couple d'amorce (marqueur microsatellite) ont été pris. Sur ces profils sont représentés les différents fragments (2 allèles au maximum) pour l'ensemble des 18 microsatellites et pour chaque individu de chacune des 15 accessions. La **figure 17** illustre un exemple de profils obtenu, cas du locus *umc1329*. Après la lecture de tous les profils, un tableau de données est constitué, il regroupe l'ensemble des génotypes obtenus pour les 235 individus (de 15 accessions) et les 18 marqueurs SSR. Les profils électrophorétiques des marqueurs correspondant aux microsatellites *bnlg1740* et *umc1984*, étaient illisibles, donc ils n'ont pas été pris en considération par conséquent l'étude s'est basée sur les résultats de 16 marqueurs.

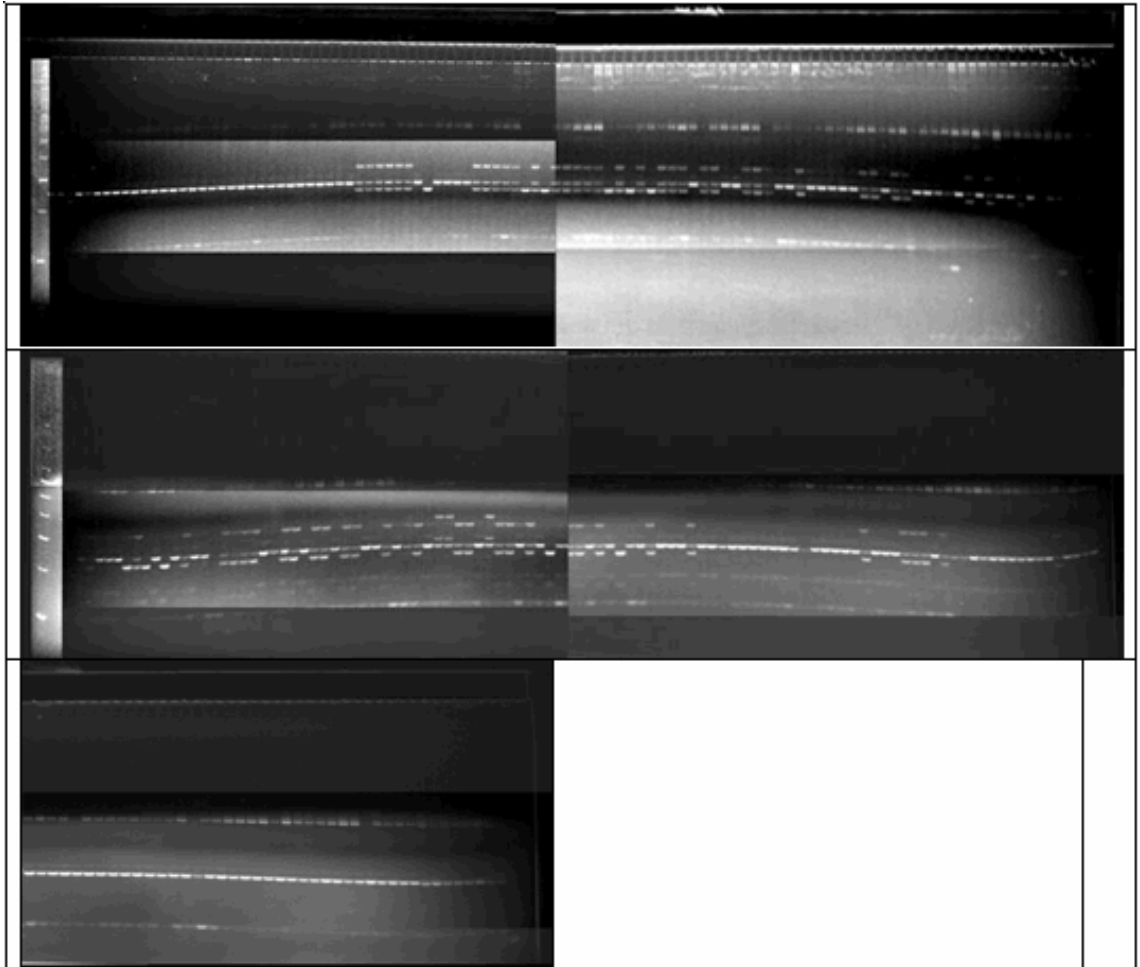


Figure 17: Exemple de profils électrophorétiques obtenus : cas du locus umc1329 correspondant aux 16 individus des 15 populations.

5. Analyse de la diversité génétique

5.1. Diversité génétique intra-accession

Les paramètres de la diversité génétique intra-accession touchent deux niveaux:

- la diversité génétique dans les sous populations (Statistiques descriptives pour les accessions)
- la diversité génétique dans la population globale (les statistiques descriptives des loci)

5.1.1. Diversité génétique par accession

5.1.1.1. Loci actifs

La diversité génétique a été évaluée en utilisant 18 marqueurs microsatellites sur une collection de 14 accessions de maïs provenant du Sud Algérien et une population du Nord. Parmi les 18 marqueurs étudiés, seulement 16 sont actifs. Il s'agit de : phi127, phi036, phi027, phi059, umc1222, umc1165, umc1265, bnlg1520, umc1329, umc1225, umc1403, umc1424, umc1545, umc1327, umc1335, umc1963. Les autres loci n'ont pas été pris en considération parce qu'ils comportaient beaucoup de données manquantes ou tout simplement leurs gels correspondants étaient de mauvaise qualité, rendant la lecture illisible.

5.1.1.2. Richesse allélique des accessions

Le nombre moyen d'individus génotypés par accession (logiciel GDA) est de 15,207 individus (figure 19). Le nombre total d'allèles détectés est 91 allèles, avec une moyenne de 2.819 allèles par accession (A). La richesse allélique est donc de 2.819. L'accession GOL est celle qui a la plus grande richesse allélique (4.14), elle est suivie par les accessions BSA, LOM, MST, BTM et AAS avec une richesse allélique variable entre 3.00 et 3.25. Les deux populations les moins riches en allèles sont SHH et MGH avec seulement 2.13 et 1.87 allèles en moyenne, respectivement. Les autres accessions (TAO, KST, OST, IGS, KAL, BAB et OBC) sont intermédiaires avec des valeurs allant de 2.38 à 2.93 (figure 18).

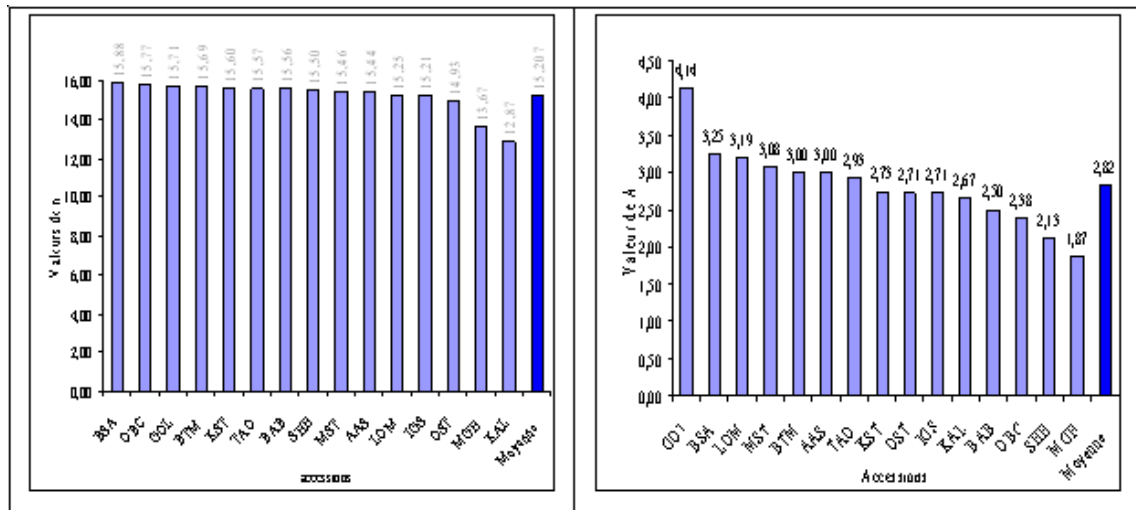


Figure 18 : Variation du nombre moyen d'individus génotypés (n) et du nombre moyen d'allèles par accessions (A).

5.1.1.3. Proportion de loci polymorphiques et nombre d'allèles par locus polymorphe

La proportion de loci polymorphes rend compte de la proportion des SSR variables par rapport à l'ensemble des SSR étudiées. La proportion moyenne de loci polymorphes (P) au niveau des 15 accessions est de 83.0 %. Les accessions BSA, GOL, IGS et MST sont celles qui présentent les plus fortes valeurs de loci polymorphes avec des valeurs variant entre 0.92 et 0.94. Les accessions BTM, AAS et LOM présentent la même valeur (0.88). Les accessions MGH et KST sont caractérisées par les plus faibles valeurs (0.60 et 0.67). Les autres accessions (TAO, OBC, SHH, KAL, OST et BAB) restent intermédiaires (0.75 à 0.86) (figure 19).

Le nombre moyen d'allèles par locus polymorphe est de 3.168 pour l'ensemble des accessions. La population GOL est celle qui présente le nombre d'allèles par locus

polymorphe le plus élevé avec 4.38. Les accessions SHH, MGH, OBC et IGS présentent les nombres les plus faibles (2.38 à 2.85). Toutes les autres accessions (LOM, BAB, KST, MST, OST, BSA, BTM, TAO, AAS et KAL) présentent des nombres intermédiaires d'allèles par locus polymorphe (3.00 à 3.60) (**figure 19**).

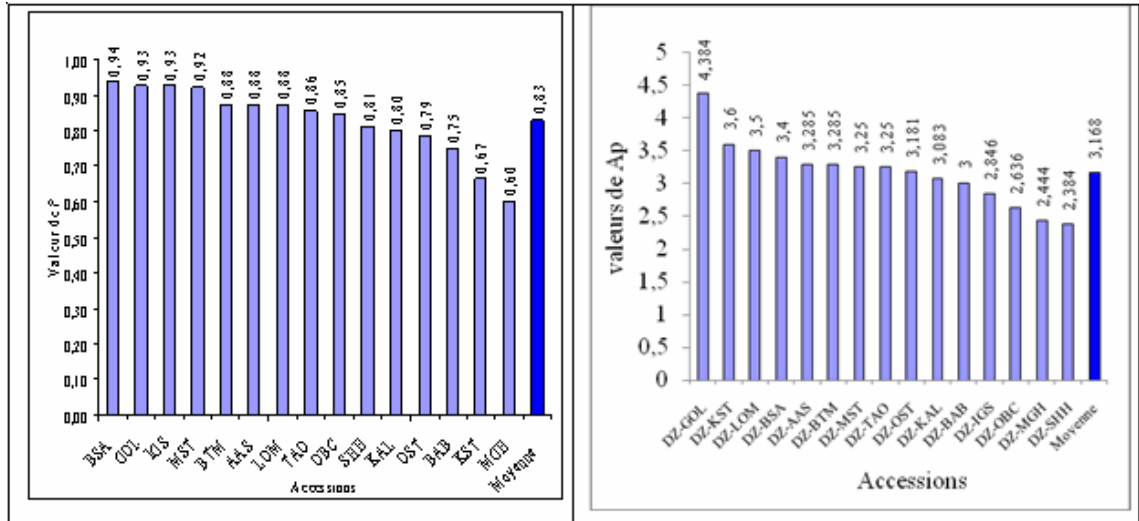


Figure 19 : Variation de la proportion de loci polymorphes (P) et du nombre d'allèles par locus polymorphe (Ap) en fonction des accessions.

5.1.1.4. Hétérozygotie attendue et hétérozygotie observée

Les taux d'hétérozygotie observée (H_o) et attendue (H_e) sont calculés pour chaque accession sous l'hypothèse d'équilibre de Hardy-Weinberg. La moyenne de l' H_e pour tous les loci est un estimateur de l'étendue de la variabilité génétique de la population globale. Dans le but d'estimer l'importance du polymorphisme génétique les 2 taux d'hétérozygotie sont comparés. Dans notre cas les moyennes de H_e et H_o pour les sous populations (les 15 accessions) sont, respectivement, de 0.397 et 0.391 (**figure 20**).

Le taux d'hétérozygotie espérée varie de 0,621 pour GOL à 0,265 pour MGH marquant une distribution inégale de la diversité génétique et l'Hétérozygotie observé varie de 0,222 (MGH) à 0,586 (LOM).

De plus, si l'on prend les accessions une à une, on s'aperçoit que seules 3 accessions sur 15 présentent un important déficit en hétérozygotes c'est-à-dire que $H_e > H_o$ (KST, MGH et GOL). En contre partie, 6 accessions ne présentent pas beaucoup de différences entre H_e et H_o , néanmoins, l'écart reste positif (BSA, BAB, BTM, SHH, OBC et IGS) et les 6 autres accessions (AAS, LOM, MST, TAO, OST et KAL) présente une hétérozygotie excédentaire $H_e < H_o$ qui est importante pour LOM et TAO.

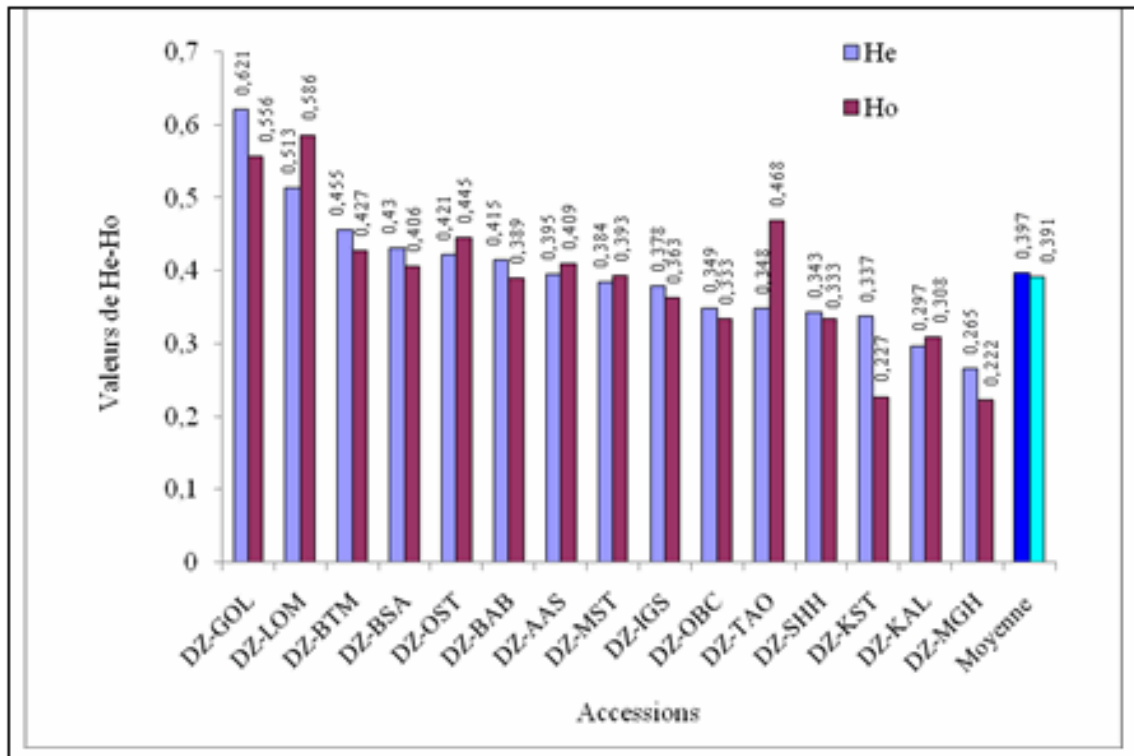


Figure 20 : Variation de l'hétérozygotie attendue (He) et de l'hétérozygotie observée (Ho) en fonction des accessions

5.1.1.5. Coefficient de consanguinité

Le coefficient de consanguinité f ou F_{is} reflète la différenciation des individus à l'intérieur des sous-populations. [si $f = 0$ population en équilibre de Hardy-Weinberg, si $f > 0$ déficit en hétérozygote (consanguinité), $f = 1$ fixation complète (cas d'autofécondation), si $f < 0$ hétérozygotie excédentaire, (Wright, 1978)]. La valeur moyenne du coefficient de consanguinité f pour l'ensemble des sous-populations est de 0,014. Cette valeur confirme les résultats obtenus pour les deux taux d'hétérozygotie (He et Ho). Effectivement, si l'on s'intéresse aux accessions séparément, on s'aperçoit qu'aucune d'elles n'est fixée, c'est-à-dire avec une valeur de $f = 1$. Nos accessions appartiennent, cependant, à trois groupes distincts. Le premier (BTM, BAB, BAS, OBC, IGS et SHH) est constitué des accessions proches de l'équilibre de Hardy-Weinberg (peu ou pas de consanguinité), avec une valeur de $0,028 \leq f < 0,108$, le deuxième est représenté par les accessions présentant un déficit en hétérozygote moyen à important (MGH et GOL, avec $f = 0,108$ et $f = 0,165$, respectivement et KST avec $f = 0,332$). Effectivement, KST est l'accession qui présente la plus haute valeur positive de f . Le troisième groupe (MST, AAS, KAL, OST, LOM et TAO) est constitué des accessions présentant un excès d'hétérozygotie avec des valeurs allant de $-0,025$ à $-0,361$ (Equilibre de Hardy – Weinberg)(figure 21 et annexe 2).

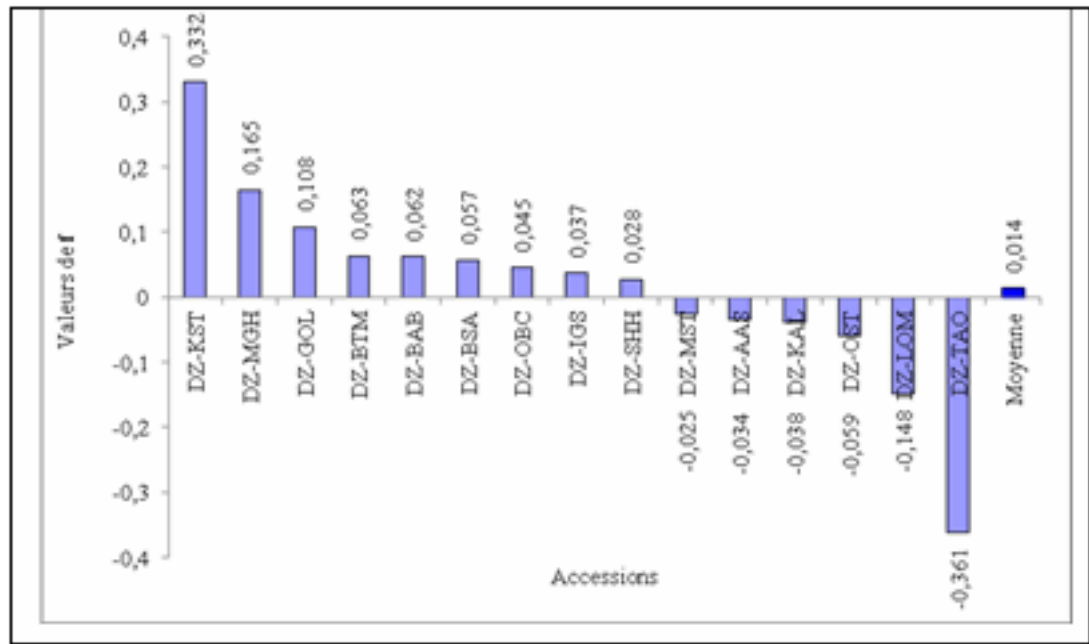


Figure 21 : Variation de la valeur du coefficient de consanguinité en fonction des accessions

5.1.2. Diversité génétique totale

Cette partie regroupe les données obtenues pour chaque locus permettant ainsi de connaître les différences pouvant exister entre les 17 loci et rendant compte de la diversité génétique existante au sein de la population globale. Le nombre d'individus (n) génotypés, le nombre d'allèles par locus (A), le nombre d'allèles par locus polymorphique (A_p), la proportion de loci polymorphiques (P), l'hétérozygotie espérée et observée (H_e) et (H_o) respectivement, et le coefficient globale de la consanguinité F (déficit en hétérozygotes pour un locus donné dans l'accension totale (l'ensemble des 15 accessions)) ont été calculé pour chaque locus.

Les 16 marqueurs microsatellites ont permis de réaliser le génotypage d'un nombre moyen de 211,937 individus par locus (**figure 22**). Le nombre total d'allèles par locus (A) varie de 1 pour le locus umc1403 à 9 pour les loci phi036 et umc1225 et la moyenne totale pour la population globale est de 5,687 (**figure 22**).

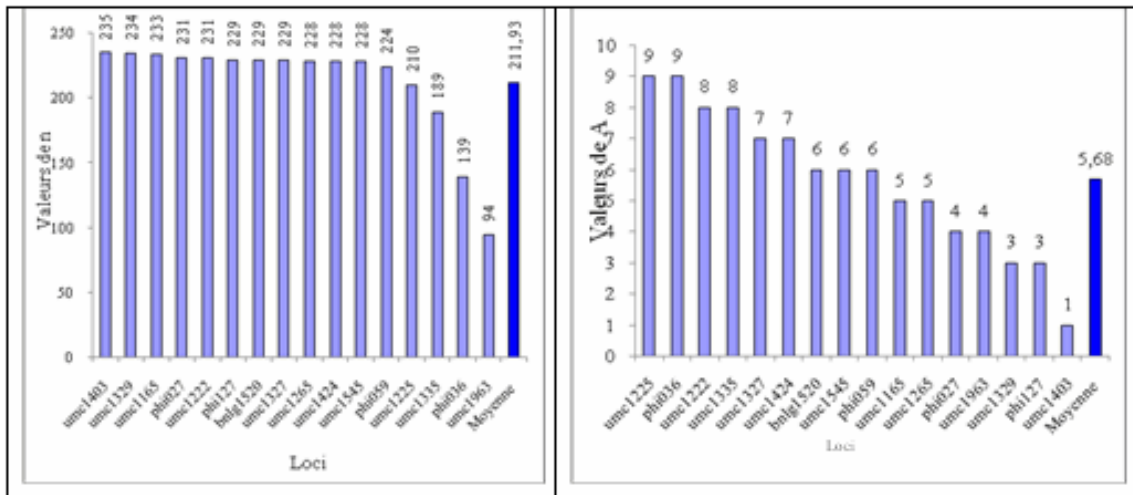


Figure 22: Variation de la moyenne du nombre total d'individus génotypés (n) et de la moyenne du nombre total d'allèles (A) par locus.

Le taux de polymorphisme (P) total (pour la population globale) est de 93%. Nous pouvons observer que tous les loci sont polymorphiques à l'exception de l'umc1403 (ce locus ne présente aucune diversité allélique (pas de polymorphisme) aussi bien intra qu'inter-accessions, c'est la raison pour laquelle la moyenne du nombre total d'allèles par locus est différente de la moyenne du nombre total d'allèles par locus polymorphique (Ap) qui s'élève à 6,000 (figure 23).

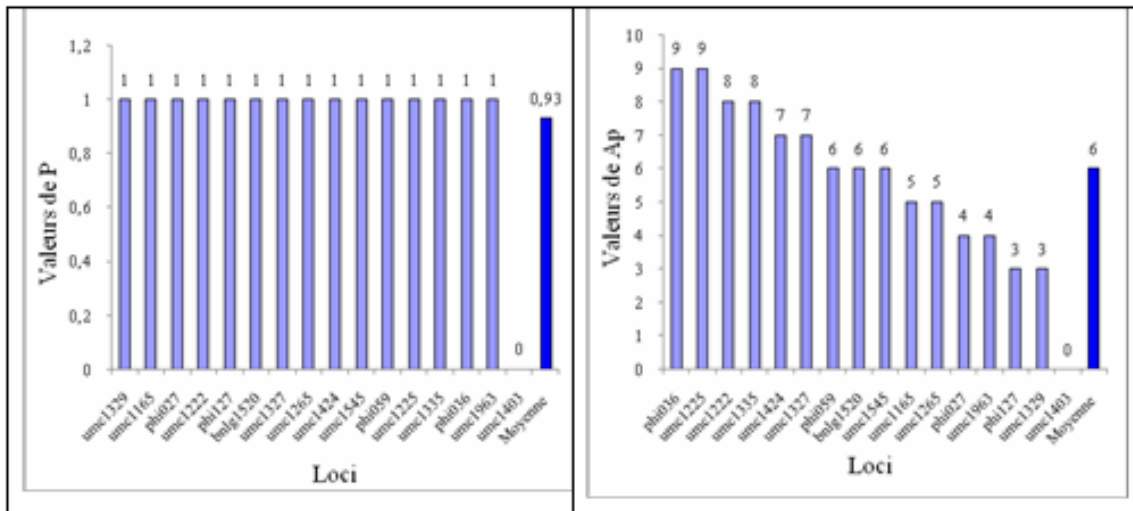


Figure 23: variations de la proportion totale de loci polymorphes (P) et du nombre total d'allèles par locus polymorphique (Ap)

Parmi les loci polymorphes, le locus umc1327 présente le taux d'hétérozygotie espérée (He) le plus élevé 0,795 et le locus umc1963 présente le taux d'hétérozygotie observée (Ho) la plus élevée 0,585. En revanche les loci umc1329 et phi127 présentent les taux He et Ho les plus bas avec 0,294 et 0,209, respectivement. L'hétérozygotie espérée globale pour les 17 loci est de 0,571 et l'Ho globale est de 0,402 (figure 24).

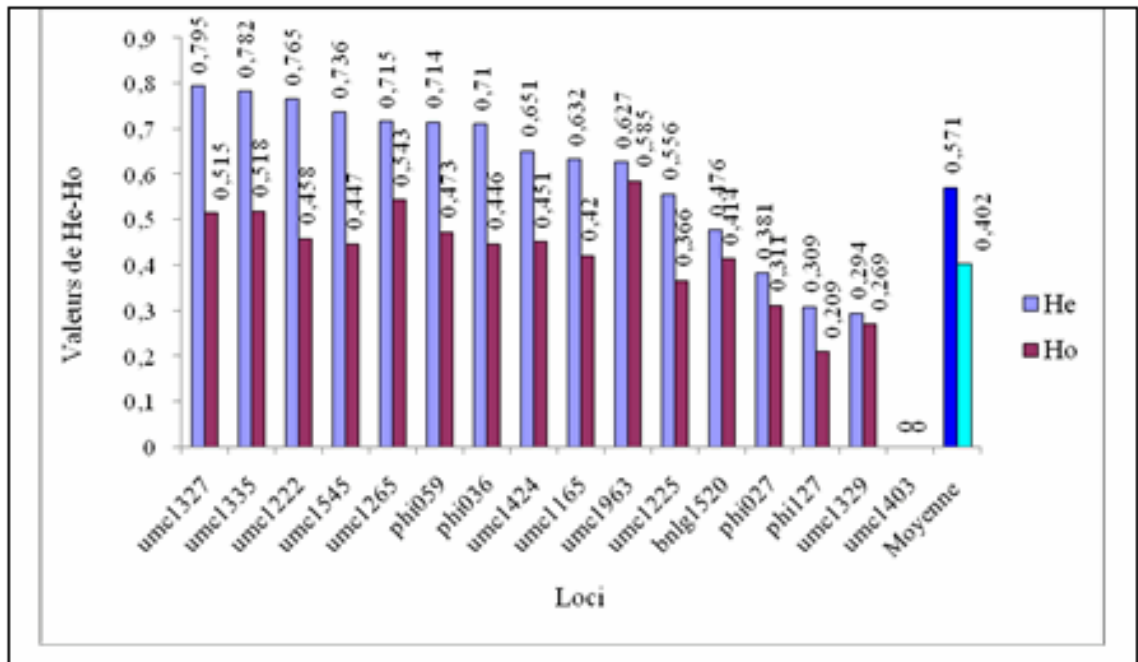


Figure 24 : Variation des taux d'hétérozygoties espérée (He) et observée (Ho) en fonction des loci.

Le coefficient global de consanguinité F mesure le déficit en hétérozygote de l'accension totale pour chaque locus. La valeur la plus élevée de F est observée chez le locus umc1222 (0,401), la plus basse est pour le locus umc1963 avec une valeur de 0,067 cela signifie que c'est pour le locus umc1963 que la totalité des accessions ont montré le plus d'hétérozygotes contrairement au locus umc1222. La moyenne totale étant de 0,297, elle confirme les résultats obtenus pour l'He et Ho signalant un déficit en Hétérozygote de la population globale (Figure 25 et annexes 2).

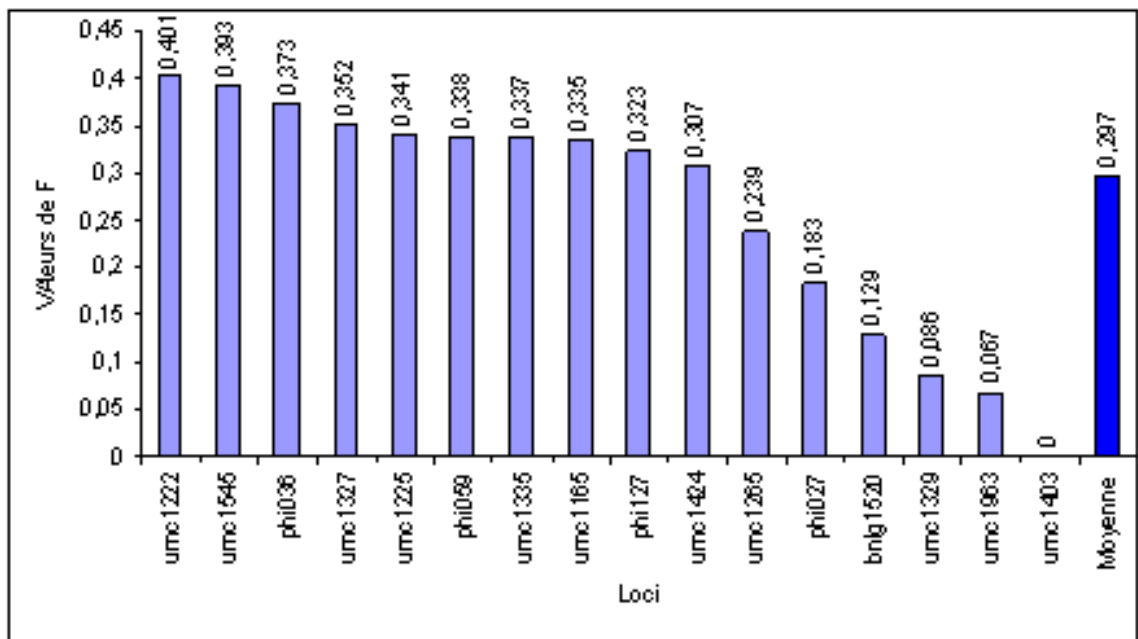


Figure 25: Variation du coefficient de consanguinité global (F) en fonction des loci

5.1.3. Fréquences alléliques

Les fréquences alléliques obtenues pour les allèles de chaque locus (marqueur SSR) sont présentées dans les tableaux 15 à 21. Le nombre d'allèles par locus varie de 1 (umc1403) à 9 (phi036, umc1225) et leur distribution est assez régulière dans l'ensemble des 15 accessions où les allèles les plus fréquents sont généralement les mêmes. Tel est le cas pour l'allèle 1 qui est souvent le plus abondant dans les différents loci et pour toutes les accessions.

Les fréquences alléliques calculées pour chaque locus et chaque accession varient de 0,031 pour les allèles les plus rares (les allèles rares sont ceux ayant des fréquences alléliques inférieure à 0,05) à 1 pour les allèles fixés. Les accessions MGH et KST ont le plus grand nombre d'allèles fixés avec 6 et 5 allèles, respectivement. Pour le locus umc1403, la présence exclusive de l'allèle 1 dont la fréquence est maximale (1) est nettement remarquable, l'allèle est présent et fixé (état homozygote) dans la totalité des accessions.

Une analyse plus détaillée des 6 tableaux (15 à 21) nous permet d'observer qu'une plus grande proportion de loci a des fréquences alléliques importante (0,500) dans les accessions SHH et MGH que dans les autres accessions, mais c'est dans les accessions KAL, MGH et KST que l'on retrouve le plus grand nombre d'allèles ayant des fréquences alléliques supérieur à 0,800. Pour le locus umc1403, la présence exclusive de l'allèle 1 dont la fréquence est maximale (frq = 1) est nettement remarquable, l'allèle est présent et fixé dans la totalité des accessions.

L'examen des fréquences alléliques dans les 6 tableaux, permet également de détecter les allèles spécifiques (uniques) d'une accession pour un locus donné. En tout, 8 allèles spécifiques ont été trouvés. Tel est le cas pour la accession AAS qui en possède deux, il s'agit de l'allèle 3 du locus umc1225 (**tableau 12**) et l'allèle 6 du locus umc1545 (**tableau 17**). Les allèles 7 des locus umc1424 (**tableau 17**) et umc1327 (**tableau 18**) sont spécifiques de l'accession KST. L'accession GOL aussi possède un allèle spécifique, c'est l'allèle 3 du locus umc1329 (**tableau 14**). L'allèle 8 du locus umc1222 (**tableau 16**) est un allèle spécifique pour OBC. Pour le locus phi059 (**tableau 12**) l'allèle 1 est spécifique à l'accession BSA et enfin l'accession BAB possède l'allèle 1 du locus umc1335 (**tableau 18**) comme allèle spécifique.

La moyenne d'allèles rares par accession est 5,5, et leur distribution entre les accessions n'est pas uniforme ; au contraire, l'accession BAB a 12 allèles rares, suivi par IGS avec 9 et MST et KAL avec 8 allèles rares. D'un autre côté, BTM n'a que 2 allèles rares et SHH, OST et MGH en ont 3.

Dans le **tableau 12**, ci dessous, sont présentées les fréquences alléliques des loci umc1225 et phi059. D'après ce tableau, 9 allèles ont été détectés pour le locus umc1225 et 6 pour le locus phi059 au sein des 15 accessions étudiées, et l'allèle le plus fréquent est l'allèle 1 concernant le locus umc1225 alors que l'allèle le plus fréquent pour le locus phi059 est l'allèle 3.

Utilisation des marqueurs SSRs pour l'étude de la diversité génétique de quelques populations algériennes de maïs (*Zea mays* L.)

Accessions	umc1225									Allèles					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6
AAS	0,464	0,000	0,143	0,250	0,143	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000
BAB	0,464	0,000	0,000	0,000	0,536	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,594	0,406	0,000	0,000	0,000
BTM	0,393	0,000	0,000	0,607	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,107	0,500	0,393	0,000	0,000
BSA	0,500	0,167	0,000	0,000	0,000	0,233	0,033	0,067	0,000	0,067	0,200	0,733	0,000	0,000	0,000
SHH	0,964	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036	0,000	0,000	0,000	0,000	0,438	0,562	0,000	0,000	0,000
LOM	0,321	0,000	0,000	0,286	0,107	0,036	0,000	0,000	0,250	0,000	0,393	0,536	0,071	0,000	0,000
OBC	0,679	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036	0,250	0,036	0,000	0,000	0,000	0,000	0,531	0,469
MST	0,308	0,000	0,000	0,077	0,038	0,038	0,038	0,038	0,462	0,000	0,000	0,000	0,000	0,438	0,562
TAO	0,938	0,062	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,469	0,531
GOL	0,250	0,094	0,000	0,312	0,031	0,125	0,000	0,094	0,094	0,000	0,281	0,625	0,094	0,000	0,000
IGS	0,250	0,750	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,031	0,469	0,500	0,000	0,000
OST	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,077	0,385	0,538	0,000	0,000
MGH	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,500	0,500	0,000	0,000	0,000
KAL	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,885	0,115	0,000
KST	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,643	0,286	0,071	0,000	0,000
Nbre pop. Contenant l'allèle	15	4	1 (allèle privé)	5	5	5	3	4	4	1 (allèle privé)	10	12	7	3	3

Tableau 12: Fréquences alléliques des loci umc1225 et Phi059

Le tableau 13 regroupe les résultats des fréquences alléliques pour les loci phi127, phi027 et umc1165. Ce tableau permet de compter 3 allèles pour le locus phi127, 4 allèles pour le locus phi027 et un total de 5 allèles pour le locus umc1165 au sein de notre collection de 15 accessions. Les allèles les plus fréquents sont l'allèle 1 pour les loci phi127, phi027 umc1165. Aucun allèle spécifique, n'a été détecté pour ces trois loci.

Accessions	phi127			phi027				umc1165				
	1	2	3	1	2	3	4	1	2	3	4	5
AAS	0,875	0,094	0,031	0,844	0,062	0,000	0,094	0,062	0,000	0,938	0,000	0,000
BAB	0,656	0,250	0,094	0,875	0,062	0,062	0,000	0,875	0,062	0,062	0,000	0,000
BTM	0,400	0,600	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,438	0,125	0,438	0,000	0,000
BSA	1,000	0,000	0,000	0,929	0,000	0,000	0,071	0,469	0,281	0,250	0,000	0,000
SHH	0,562	0,062	0,375	0,312	0,000	0,000	0,688	0,531	0,000	0,000	0,375	0,094
LOM	0,667	0,000	0,333	0,594	0,375	0,000	0,031	0,400	0,233	0,000	0,367	0,000
OBC	1,000	0,000	0,000	0,781	0,031	0,000	0,188	0,812	0,000	0,000	0,188	0,000
MST	0,969	0,031	0,000	0,938	0,000	0,000	0,062	0,750	0,125	0,031	0,094	0,000
TAO	1,000	0,000	0,000	0,875	0,094	0,031	0,000	0,656	0,219	0,062	0,062	0,000
GOL	0,531	0,469	0,000	0,562	0,125	0,031	0,281	0,281	0,062	0,156	0,438	0,062
IGS	0,906	0,094	0,000	0,625	0,375	0,000	0,000	0,094	0,031	0,844	0,000	0,031
OST	1,000	0,000	0,000	0,714	0,000	0,000	0,286	0,533	0,067	0,267	0,133	0,000
MGH	0,773	0,000	0,227	1,000	0,000	0,000	0,000	0,821	0,179	0,000	0,000	0,000
KAL	1,000	0,000	0,000	0,500	0,000	0,077	0,423	0,923	0,000	0,077	0,000	0,000
KST	0,967	0,033	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,625	0,312	0,000	0,062	0,000
Nbre pop. Contenant l'allèle	15	8	5	15	7	4	9	15	11	10	8	3

Tableau 13: Fréquences alléliques pour les loci phi127, phi027 et umc1165.

Les fréquences alléliques pour les loci phi036, umc1403 et umc1329 sont présentées dans le **tableau 14**. Un maximum de 9 allèles est observé pour le locus phi036, le locus umc1329 en compte 3 et 1 allèle pour le locus umc1403. L'allèle le plus fréquent pour le locus phi036 est l'allèle 1 et l'allèle 2 pour le locus umc1329. Ce dernier locus (umc1329) présente aussi un allèle (3) spécifique à l'accession GOL. Par ailleurs, les populations OBC, MST, TAO, GOL, IGS et OST, présentent des allèles nuls pour le locus phi036.

Accessions	Allèles												
	phi036									umc1403			umc1329
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	2	3
AAS	0,938	0,000	0,000	0,000	0,062	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,188	0,812	0,000
BAB	0,438	0,031	0,000	0,375	0,031	0,000	0,000	0,031	0,094	1,000	0,188	0,812	0,000
BTM	0,469	0,000	0,094	0,000	0,375	0,000	0,000	0,000	0,062	1,000	0,500	0,500	0,000
BSA	0,000	0,000	0,031	0,094	0,438	0,031	0,062	0,188	0,156	1,000	0,375	0,625	0,000
SHH	0,938	0,062	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
LOM	0,344	0,000	0,125	0,062	0,281	0,062	0,000	0,000	0,125	1,000	0,031	0,969	0,000
OBC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,031	0,969	0,000
MST	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,156	0,844	0,000
TAO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,062	0,938	0,000
GOL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,250	0,656	0,094
IGS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,312	0,688	0,000
OST	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,367	0,633	0,000
MGH	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000
KAL	0,038	0,000	0,077	0,000	0,000	0,000	0,038	0,654	0,192	1,000	0,077	0,923	0,000
KST	0,281	0,031	0,000	0,000	0,000	0,344	0,000	0,094	0,250	1,000	0,000	1,000	0,000
Nbre pop. Contenant l'allèle	8	3	4	3	5	3	2	4	6	15	14	15	1 (allèle privé)

Tableau 14: Fréquences alléliques pour les loci phi036, umc1403 et umc1329.

Le tableau 15, montre les fréquences alléliques obtenues pour les loci umc1265 et bnlg1520 avec respectivement 5 et 6 allèles. Les allèles les plus fréquents sont l'allèle 2 le locus umc1265 et l'allèle 3 pour bnlg1520.

Accessions	Allèles										
	umc1265					bnlg1520					
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6
AAS	0,000	0,656	0,219	0,094	0,031	0,375	0,250	0,375	0,000	0,000	0,000
BAB	0,000	0,906	0,031	0,031	0,031	0,000	0,000	0,844	0,156	0,000	0,000
BTM	0,000	0,312	0,656	0,031	0,000	0,000	0,000	0,938	0,062	0,000	0,000
BSA	0,000	0,219	0,250	0,000	0,531	0,344	0,125	0,438	0,094	0,000	0,000
SHH	0,000	0,531	0,406	0,000	0,062	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
LOM	0,000	0,344	0,250	0,000	0,406	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
OBC	0,000	0,188	0,000	0,000	0,812	0,133	0,233	0,633	0,000	0,000	0,000
MST	0,000	0,233	0,633	0,000	0,133	0,000	0,156	0,844	0,000	0,000	0,000
TAO	0,000	0,667	0,067	0,200	0,067	0,100	0,033	0,133	0,000	0,500	0,233
GOL	0,250	0,406	0,344	0,000	0,000	0,062	0,219	0,219	0,219	0,219	0,062
IGS	0,000	0,300	0,033	0,667	0,000	0,100	0,000	0,833	0,000	0,067	0,000
OST	0,036	0,179	0,286	0,250	0,250	0,000	0,393	0,607	0,000	0,000	0,000
MGH	0,000	0,000	0,179	0,000	0,821	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
KAL	0,000	0,269	0,577	0,000	0,154	0,208	0,000	0,792	0,000	0,000	0,000
KST	0,000	0,179	0,821	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000
Nbre pop. Contenant l'allèle	2	14	14	6	11	7	7	15	4	2	2

Tableau 15: Fréquences alléliques pour les loci umc1265 et bnlg1520.

Le tableau 16 exprime les fréquences des loci umc1222 et umc1963. Parmi les résultats nous pouvons voir que les loci umc1222 et umc1963 ont dévoilé pour les 15 accessions 8 et 4 allèles respectivement. Les fréquences alléliques les plus élevées pour les loci umc1222 et umc1963 sont observées, respectivement, pour les allèles 2 des deux loci. Le locus umc1222 présente en outre un allèle rare (8) spécifique de l'accession OBC. Par ailleurs, le locus umc1963 présente des allèles nuls pour les populations OBC, MST, TAO, GOL, IGS, OST, MGH, KAL et KST.

Utilisation des marqueurs SSRs pour l'étude de la diversité génétique de quelques populations algériennes de maïs (*Zea mays* L.)

Accessions	Allèles											
	umc1222								umc1963			
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4
AAS	0,036	0,000	0,214	0,071	0,179	0,500	0,000	0,000	0,938	0,000	0,062	0,000
BAB	0,031	0,344	0,281	0,156	0,031	0,125	0,031	0,000	0,531	0,375	0,094	0,000
BTM	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,536	0,393	0,000	0,071
BSA	0,000	0,875	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,500	0,438	0,064	0,000
SHH	0,375	0,625	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,031	0,594	0,375
LOM	0,000	0,594	0,094	0,031	0,031	0,250	0,000	0,000	0,719	0,281	0,000	0,000
OBC	0,000	0,469	0,000	0,000	0,000	0,000	0,500	0,031	-	-	-	-
MST	0,062	0,312	0,000	0,062	0,062	0,031	0,469	0,000	-	-	-	-
TAO	0,094	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000	0,656	0,000	-	-	-	-
GOL	0,167	0,200	0,100	0,067	0,267	0,200	0,000	0,000	-	-	-	-
IGS	0,844	0,031	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	-	-	-	-
OST	0,219	0,031	0,000	0,000	0,188	0,125	0,438	0,000	-	-	-	-
MGH	0,357	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,643	0,000	-	-	-	-
KAL	0,038	0,038	0,000	0,000	0,038	0,077	0,808	0,000	-	-	-	-
KST	0,000	0,333	0,000	0,000	0,033	0,067	0,567	0,000	-	-	-	-
Nbre pop. Contenant l'allèle	10	13	4	5	8	9	9	1 (privé)	5	5	4	2

Tableau 16: Fréquences alléliques pour les loci umc1222 et umc1963

Les fréquences alléliques des loci umc1424 et umc1545 sont regroupées dans le **tableau 17** où nous pouvons voir que le premier locus possède 7 allèles et que le deuxième en possède 6. L'allèle le plus fréquent pour umc1424 est l'allèle 4 et le plus présent pour le locus umc1545 est l'allèle 5 et cela au sein des 15 accessions algériennes de maïs analysées. Par ailleurs, les deux locus montrent des allèles privés ; l'allèle 7 pour le locus umc1424 et l'allèle 6 pour le locus umc1545.

Accessions	Allèles												
	umc1424							umc1545					
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6
AAS	0,03	0,23	0,00	0,50	0,00	0,23	0,00	0,20	0,00	0,07	0,03	0,60	0,10
BAB	0,00	0,00	0,00	0,59	0,03	0,38	0,00	0,06	0,47	0,00	0,03	0,44	0,00
BTM	0,41	0,06	0,00	0,41	0,00	0,13	0,00	0,44	0,00	0,00	0,19	0,38	0,00
BSA	0,00	0,03	0,87	0,10	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,41	0,53	0,00
SHH	0,00	0,00	0,19	0,65	0,00	0,15	0,00	0,04	0,00	0,00	0,96	0,00	0,00
LOM	0,00	0,06	0,44	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00	0,31	0,34	0,00
OBC	0,31	0,00	0,06	0,63	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,91	0,00
MST	0,00	0,00	0,00	0,77	0,00	0,23	0,00	0,03	0,00	0,17	0,00	0,80	0,00
TAO	0,03	0,06	0,41	0,47	0,03	0,00	0,00	0,00	0,06	0,88	0,03	0,03	0,00
GOL	0,00	0,00	0,13	0,59	0,00	0,28	0,00	0,25	0,07	0,00	0,43	0,25	0,00
IGS	0,00	0,00	0,00	0,84	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	0,44	0,00
OST	0,00	0,09	0,00	0,91	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,23	0,00	0,73	0,00
MGH	0,00	0,00	0,75	0,21	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,68	0,32	0,00
KAL	0,083	0,000	0,083	0,500	0,000	0,333	0,000	0,000	0,000	0,846	0,038	0,115	0,000
KST	0,062	0,094	0,156	0,281	0,000	0,156	0,250	0,688	0,188	0,000	0,031	0,094	0,000
Nbre pop. Contenant l'allèle	6	7	9	15	2	10	1 (privé)	8	6	5	13	14	1 (privé)

Tableau 17: Fréquences alléliques des loci umc1424 et umc1545.

Les résultats présentés dans le **tableau 18**, correspondent aux fréquences alléliques des loci umc1327 et umc1335. Au total 7 allèles ont été dévoilés pour le locus umc1327 et 8 pour le locus umc1335. L'allèle 2 est le plus fréquent pour le locus umc1335 et l'allèle 3 pour le locus umc1327. En outre le 2 loci présentent des allèles privés ; l'allèle 7 pour umc1327 spécifique à l'accèsion KST et l'allèle 1 pour umc1335 spécifique à la population BAB. Par ailleurs, le locus umc1335 présente des allèles nuls pour les populations OBC et MST.

Accessions	Allèles														
	umc1327							umc1335							
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	8
AAS	0,154	0,231	0,615	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,406	0,156	0,094	0,000	0,000	0,344	0,000
BAB	0,500	0,125	0,000	0,000	0,375	0,000	0,000	0,062	0,000	0,031	0,094	0,000	0,000	0,812	0,000
BTM	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,031	0,188	0,344	0,312
BSA	0,500	0,000	0,000	0,344	0,156	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,375	0,531	0,094	0,000
SHH	0,000	0,531	0,467	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,467	0,533	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LOM	0,400	0,067	0,467	0,067	0,000	0,000	0,000	0,000	0,318	0,273	0,045	0,227	0,136	0,000	0,000
OBC	0,312	0,000	0,000	0,375	0,312	0,000	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-
MST	0,100	0,400	0,400	0,000	0,100	0,000	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-
TAO	0,000	0,000	0,906	0,094	0,000	0,000	0,000	0,000	0,583	0,167	0,250	0,000	0,000	0,000	0,000
GOI	0,406	0,000	0,219	0,219	0,156	0,000	0,000	0,000	0,100	0,033	0,067	0,600	0,100	0,067	0,033
IGS	0,719	0,000	0,250	0,000	0,031	0,000	0,000	0,000	0,433	0,033	0,033	0,100	0,267	0,033	0,000
OST	0,000	0,100	0,600	0,300	0,000	0,000	0,000	0,000	0,600	0,100	0,000	0,167	0,133	0,000	0,000
MGH	0,357	0,071	0,000	0,571	0,000	0,000	0,000	0,000	0,423	0,038	0,000	0,000	0,038	0,500	0,000
KAL	0,000	0,000	0,192	0,769	0,000	0,038	0,000	0,000	0,885	0,000	0,038	0,000	0,077	0,000	0,000
KST	0,062	0,094	0,000	0,438	0,000	0,031	0,375	0,000	0,812	0,000	0,000	0,000	0,188	0,000	0,000
Nbre Contenant l'allèle	10	8	9	9	7	2	1 (privé)	1 (privé)	10	10	7	6	8	7	2

Tableau 18: Fréquences alléliques des loci umc1327 et umc1335.

5.2. Diversité génétique inter-accessions

5.2.1. Indices de fixation de Wright : F-statistiques

La différenciation des accessions (F_{ST}) correspond à la séparation génétique entre les sous-accessions. Cet indice mesure la réduction relative des hétérozygotes, lié aux différences alléliques entre accessions. C'est un indice de diversification des accessions. Si les sous-accessions sont identiques, $F_{st}=0$. Wright (1978) a ainsi défini 4 niveaux de différenciation génétique en fonction de la valeur de F_{st} :

$0 < F_{st} < 0,05$: 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

Le **Fis** rend compte de la consanguinité au sein des variétés. Il représente donc la diminution d'hétérozygotes due à ce facteur, et **Fit** est le coefficient global de la consanguinité. Il reprend les effets de la consanguinité intra-accession (**Fis**) et de la différenciation génétique des accessions (**Fst**).

La structure génétique peut être élucidée à partir de ces trois paramètres. Les valeurs moyennes des indices de fixation de **Wright (1978)** (tous loci confondus): **Fis**, **Fit** et **Fst** des 15 accessions s'élèvent respectivement à 0,0045, 0,3097 et 0,3128 (**tableau 19**).

Les valeurs de **Fis** varient de -0,274 pour umc1963 à 0,118 pour umc1222 et celles de **Fit** varient de 0,095 pour umc1329 à 0,413 pour umc1222. La différenciation génétique **Fst** est importante pour umc1329 (0,157), umc1424 (0,230) et phi027 (0,240), tandis qu'elle est très importante pour le reste des loci variant de 0,274 pour phi127 à 0,394 pour umc1545 (**tableau 19**).

Loci	Fis	Fit	Fst	Niveau de différenciation
umc1329	-0,073	0,095	0,157	0,15 < Fst < 0,25 : différenciation importante
umc1424	0,113	0,317	0,23	
phi027	-0,058	0,195	0,24	
phi127	0,084	0,335	0,274	Fst > 0,25 différenciation très importante
bnlg1520	-0,198	0,145	0,287	
umc1165	0,08	0,347	0,29	
umc1335	0,078	0,352	0,296	
umc1963	-0,274	0,112	0,303	
umc1265	-0,077	0,254	0,308	
phi036	0,104	0,394	0,323	
umc1225	0,044	0,355	0,325	
umc1222	0,118	0,413	0,335	
phi059	-0,006	0,353	0,357	
umc1327	0,015	0,367	0,357	
umc1545	0,023	0,408	0,394	
umc1403	-	-	-	
Moyenne	0,0045	0,312	0,309	

Tableau 19: Indices de fixations de Wright (1978) obtenus pour les 17 loci.

5.2.2. Distances génétiques

La matrice des distances génétiques (**tableau 20**) générée par GDA selon la méthode UPGMA basée sur la distance de Nei (1978) entre les 15 accessions et sur la base des 16 loci a permis de constater que les distances génétiques entre les accessions varient de 0,124 à 0,704. Ceci reflète l'existence d'une large diversité génétique qui caractérise les 15 accessions étudiées. Ce tableau montre que les distances les plus faibles (0,124; 0,154; 0,164; 0,173; 0,181; 0,189; 0,190 et 0,192) sont enregistrées respectivement pour les couples d'accessions : OBC-MST, OST-KAL, MST-OST, KAL-KST, BSA-LOM, MGH-KST, LOM-GOL, OBC-OST. Par ailleurs, les distances les plus longues (0,704; 0,560; 0,551; 0,529; 0,521; 0,516; 0,509; et 0,501) correspondent respectivement aux couples : TAO-BTM; BTM-KAL, TAO-IGS, MGH-BTM, SHH-BTM; KST-IGS, BTM-IGS et IGS-KAL. Pour le reste des accessions les distances génétiques restent intermédiaires.

Accessions	AAS	BAB	BTM	BSA	SHH	LOM	OBC	MST	TAO	GOL	IGS	OST	MGH	KAL
BAB	0,305	1												
BTM	0,404	0,285	1											
BSA	0,353	0,331	0,314	1										
SHH	0,488	0,410	0,521	0,463	1									
LOM	0,270	0,212	0,330	0,181	0,233	1								
OBC	0,448	0,279	0,427	0,242	0,416	0,258	1							
MST	0,335	0,248	0,356	0,349	0,353	0,225	0,124	1						
TAO	0,403	0,478	0,704	0,486	0,426	0,381	0,293	0,247	1					
GOL	0,235	0,275	0,310	0,251	0,292	0,190	0,372	0,313	0,474	1				
IGS	0,291	0,444	0,509	0,411	0,436	0,339	0,479	0,417	0,551	0,311	1			
OST	0,216	0,375	0,451	0,352	0,303	0,260	0,192	0,164	0,236	0,280	0,267	1		
MGH	0,470	0,310	0,529	0,219	0,286	0,210	0,204	0,321	0,385	0,403	0,442	0,267	1	
KAL	0,356	0,432	0,560	0,413	0,311	0,343	0,286	0,276	0,239	0,392	0,501	0,154	0,226	1
KST	0,418	0,330	0,376	0,341	0,299	0,246	0,295	0,234	0,339	0,375	0,516	0,233	0,189	0,173

Tableau 20: Matrice des distances génétiques entre les 15 accessions de maïs (distance de Nei, 1978).

Le dendrogramme de la **figure 27** est construit à partir de la matrice des distances développée par la méthode UPGMA basée sur la distance génétique de Nei (1978). Ce dendrogramme montre trois clusters I, II et III.

Le cluster I est subdivisé en trois sous-clusters 1, 2 et 3 : le premier contient les accessions AAS et BAB, le deuxième compte les accessions BSA, LOM et GOL et le troisième sous cluster est formé de l'accession BTM.

Le cluster II est, lui aussi subdivisé en trois sous-clusters 1, 2 et 3 : le premier compte l'accession SHH, le deuxième est constitué des accessions OBC, MST, OST, KAL, MGH, KST et enfin TAO.

Le troisième cluster (III) est constitué d'une seule et unique accessions : IGS.

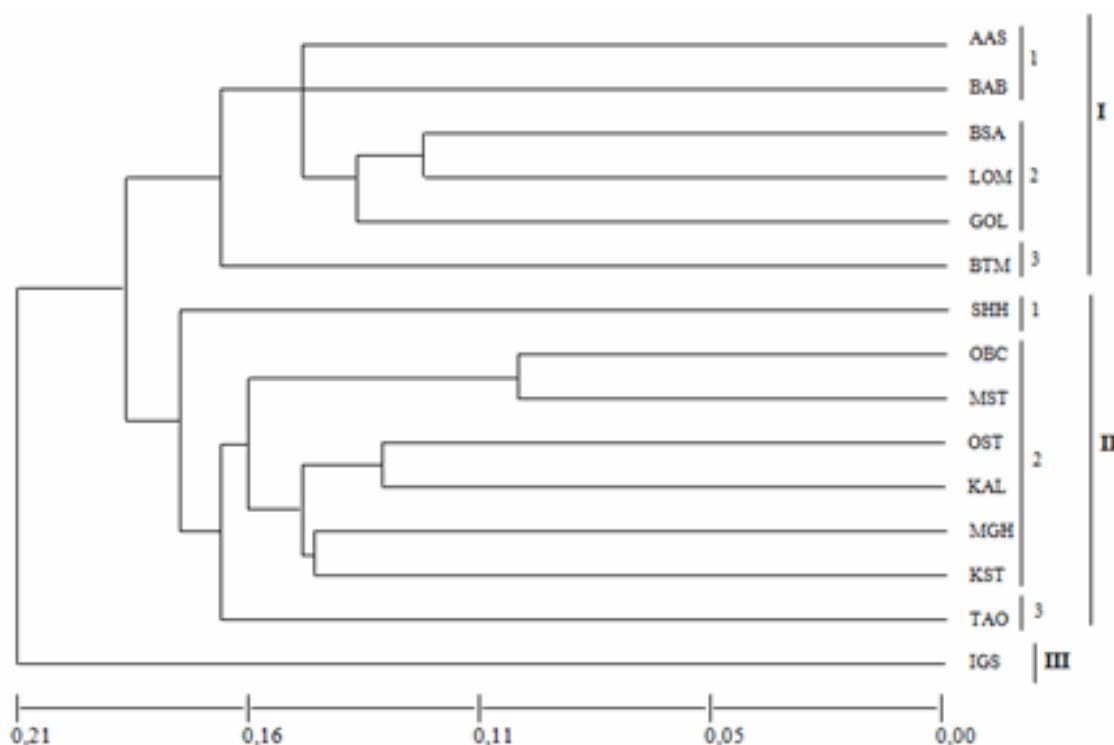


Figure 26: Dendrogramme UPGMA basé sur la distance génétique de Nei (1978) des 15 accessions locales de maïs.

II Discussion

L'étude du polymorphisme des caractères morphologiques chez les populations naturelles de plantes représente la première étape qui permet de disséquer l'importance et l'origine génétique de la variabilité existante (**Lazrek Ben-friha, 2008**). Les populations traditionnelles de maïs représentent une source précieuse d'allèles. Ce sont des populations qui ont été utilisées par les fermiers durant plusieurs générations, aboutissant à la sélection d'innombrables caractères propres à chacune d'entre elles (**Lia et al. 2009**). Par ailleurs, l'évaluation de la diversité génétique des populations traditionnelles de maïs par les marqueurs moléculaires permet une connaissance approfondie de cette diversité et des relations existantes entre les populations, ce qui facilite considérablement la conservation et la gestion de ses ressources (**Liu et al. , 2009**).

En étudiant des populations locales de maïs collectées dans le Sud Algérien, nous cherchons à connaître la variabilité existante et la structure génétique du germplasm autochtone ainsi que les relations génétiques entre différentes accessions. Cette étude est d'une grande importance pour définir les stratégies à mettre en œuvre pour l'amélioration et/ou la création de cultivars adaptés à des conditions édapho-climatiques diverses.

Le but du présent travail était de caractériser 24 accessions locales de maïs représentant une partie de la diversité existante, la structure et les relations génétiques existantes entre ces accessions. La caractérisation morphologique a été réalisée pour les 24 accessions à l'aide de 3 descripteurs morphologiques qualitatifs : Couleur des grains,

type de grains et forme de l'épi. La caractérisation moléculaire (génétique) quant à elle, a été effectuée sur la base de 18 marqueurs microsatellites (SSR's). Cette dernière n'a été faite que pour 15 accessions parmi les 24.

1. Caractérisation morphologique

1.1. Description morphologique

L'analyse de la diversité morphologique a révélé que la majorité des accessions locales de maïs possède des grains de type lisse (83,3 %), de couleur jaune/orange (41,1 %) et des épis en grande partie, de forme conique (75 %). Ainsi, une faible variabilité est observée pour le type de grains dans les 24 accessions ; il en est de même pour la forme des épis. Le plus grand polymorphisme morphologique enregistré dans notre collection concerne la couleur du grain.

1.2. Analyse en composantes principales

L'ACP a été réalisée pour classer les accessions en fonction des traits les plus discriminants et les résultats montrent que les 3 caractères qualitatifs contribuent tous à la variabilité totale expliquée par les axes de l'ACP. Cependant, ils ne sont discriminants que pour 50 % des accessions. Effectivement, ces 3 caractères ont permis de différencier les accessions ILT, AAS et TKR ayant un type de grain lisse/denté, LOM, KST et IGR ayant une forme cylindrique des épis, MST, LAH, GOL et SHH ayant une couleur en ségrégations des grains et BSA et MGH ayant des grains en ségrégation de couleur et des épis de forme cylindrique. Le reste des accessions (FEZ, KAL, OBC, TGN, BTM, IGS, OST, TAO, TBN, BAB, GHM et KHL) constitue un ensemble assez hétérogène. D'autres caractères morphologiques sont nécessaires pour aboutir à leur caractérisation.

1.3. Classification hiérarchique selon les distances euclidiennes

L'analyse des clusters des données morphologiques relative aux trois caractères morphologiques, obtenus par la classification hiérarchique selon les distances euclidiennes de dissimilarité basée sur la méthode d'agrégation des liens complets, montre une répartition des accessions relativement proche de celle obtenue par l'ACP. Néanmoins, cette répartition a été faite principalement en fonction de la couleur du grain et de la forme de l'épi conduisant à la formation de trois principaux clusters. La couleur en ségrégations du grain a conditionné la formation du premier cluster (BSA, MGH, SHH, LAH, MST et GOL). Cependant, dans ce groupe, MGH et SHH se distinguent des autres accessions car elles présentent une forme cylindrique de leurs épis, ce qui rejoint les résultats de l'ACP.

Le deuxième cluster est constitué des accessions ayant en commun la forme cylindrique de l'épi (LOM, IGR et KST). Ces résultats sont comparables également à ceux de l'ACP, toutefois, la couleur du grain contribue également à la formation de ce groupe permettant de différencier l'accession LOM qui, contrairement aux deux autres accessions, a des grains de couleur jaune.

Le troisième et dernier cluster est conditionné par le caractère couleur du grain. ce cluster est subdivisé en trois sous groupes regroupant l'accession MGH, constituant le premier sous groupe et qui est la seule à avoir des grains de couleurs orange, le deuxième sous groupe compte les accessions ayant des grains de couleurs jaune (TKR, AAS, KAL, FEZ, OBC et TGN), parmi les quelles AAS et TKR se distinguent avec le type lisse/denté

de leurs grains, et le troisième sous groupe dominé par la couleur jaune/orange du grain (BTM, BAB, IGS, OST, TAO, TBN, ILT et KHL) avec ILT et KHL se différenciant des autres par le type de grain lisse/denté et la forme cylindrique des épis respectivement.

Par ailleurs, à l'exception de KHL et MGH ayant été différenciées en plus des autres accessions, tant l'analyse des clusters que l'ACP n'ont permis une discrimination effective des accessions formant le centre d'inertie (FEZ, KAL, OBC, TGN, BTM, IGS, OST, TAO, TBN et BAB). Cette étroite relation entre les résultats de l'ACP et ceux de l'analyse des clusters a été constatée par **Sharma et al. (2010)**.

Aucune répartition selon l'origine des accessions n'est observée. Effectivement, selon **Wietholter et al. (2008)** la couleur du grain comme le type sont des traits qualitatifs qui sont gouvernés par un petit nombre de gènes n'étant pas ou très peu soumis aux effets de l'environnement. Cette caractérisation morphologique préliminaire montre que le maïs algérien est assez uniforme concernant les caractères du grain et de l'épi et que cette uniformité n'est pas associée à la variation géographique. Ces résultats peuvent indiquer que la variabilité serait due à son origine étroite avec le maïs européen. En effet, le maïs algérien serait introduit du bassin méditerranéen où il est arrivé d'Amérique (**Rebourg et al. (2001)** ; **Revilla et al. (2003)**). Selon ces auteurs, la majorité du maïs européen est aussi de grain corné et jaune et des épis coniques ou cylindriques, comme ceux du maïs algérien (**Djemel et al. (2011)**).

2. Caractérisation génétique basée sur les marqueurs SSR

2.1. Diversité intra-accessions

- Diversité génétique par accession

En analysant les données génétiques de notre collection nous avons obtenu une moyenne du nombre d'allèle par accession (2,819) identique à celle rapportée pour les populations traditionnelles de maïs en Suisse (2,8) (**Eschholz et al. (2010)**). Ces derniers, considèrent que ce résultat est très faible comparé à ceux obtenu par **Ho et al. (2005)** pour des populations de maïs nord-américaines (3,25 et 3,87). Cependant, certaines accessions de la collection Suisse ont montré un nombre moyen d'allèles élevé (3,4 et 3,9) tout comme certaines de nos accessions : GOL avec un nombre moyen d'allèle de 4,41 et BSA avec 3,25.

Les travaux d'amélioration du maïs montrent que les populations de base portant 3 à 4 allèles par locus donnent de bons résultats. Par exemple **Romay et al. (2011)** ont montré des résultats significatifs après 3 cycles de sélection récurrente intra-population suivis de 3 cycles de sélection récurrente réciproque à partir des variétés synthétiques espagnols EPS6 et EPS7 en partant de 4,25 et 4,26 allèles par locus, respectivement. **Hinze et al. (2005)** ont rapporté des résultats significatifs après 15 cycles de sélection récurrente réciproque à partir des variétés synthétiques des Etats Unis BSSS et BSCB1 en partant de 4,33 allèles par locus. De même **Rossini Pinto et al. (2003)** ont montré également des résultats significatifs après un cycle de sélection récurrente réciproque à partir des variétés synthétiques tropicales BR-105 et BR-106 en partant de 3,7 et 3,9 allèles par locus, respectivement. Cela indique un bon niveau de richesse allélique dans nos accessions comparable à celui des populations à pollinisation ouverte d'Europe, d'Amérique du Nord ou même des populations tropicales.

La variabilité génétique (H_e) moyenne des accessions est estimée à 0,397 avec des valeurs allant de 0,265 pour MGH à 0,621 pour GOL. La moyenne est inférieure à celle rapportée par **Noldin Almiron (2008)** (0,44 pour 7 accessions de maïs au Paraguay analysées par 35 microsatellites) et très inférieure comparée à celle obtenue par **Reif et al. (2006)** (0,61 pour 25 accessions de maïs mexicaines analysées avec 25 SSRs). Toutefois, la population GOL présente une H_e de 0,621. **Romay et al. (2011)** a rapporté des valeurs de H_e de 0,54 et 0,51 pour les variétés synthétiques EPS6 et EPS7 qui représentent la variabilité espagnole du Nord et du Sud, respectivement. Ces valeurs sont similaires à celles rapportées par **Rossini Pinto et al. (2003)** avec des populations tropicales BR-105 ($H_e = 0,562$) et BR-106 (0,516). Cela signifie que la diversité génétique présente dans certaines accessions algériennes est comparable à celle retrouvée dans les accessions de maïs mexicaines (ces dernières étant situées au centre de diversification du maïs expliquant leur grande diversité génétique) et supérieure à celle des accessions paraguayennes, espagnoles ou tropicales.

On remarque également une inégalité dans la distribution de la variabilité génétique dans les 15 accessions, car contrairement à GOL, MGH est l'accession ayant le moins de diversité génétique ($H_e = 0,265$). La faible variabilité au sein de cette accession peut être associée au faible nombre d'individus génotypés (13,666) d'une part, réduisant les chances de détecter des allèles de faibles fréquences ; et d'autre part, cette accession pourrait avoir subi une sélection de la part des fermiers conduisant à la perte d'une partie de sa diversité génétique. Aussi, il n'est pas improbable que les graines ayant servies à sa multiplication fussent prélevées, par les fermiers, à partir d'un nombre très restreint d'épis.

En comparant l' H_e et l' H_o il est possible de déduire l'impact des forces évolutives dans les accessions dues à l'autofécondation. On note bien que les moyennes de H_e et H_o pour les accessions sont très proches (0,397 et 0,391, respectivement), ceci indique qu'il existerait en moyenne, très peu d'homozygotes à l'intérieur des accessions et que ces dernières seraient en équilibre panmictique, cependant, c'est l'hétérozygotie excédentaire (due à l'origine multi-parentale des accessions) présente dans 6 des 15 accessions qui compense le déficit en hétérozygotes présent dans le reste des accessions (KST entre autres). Toutefois, malgré cette compensation l'ensemble des accessions reste très proche de l'équilibre de Hardy – Weinberg. Effectivement, ces résultats sont confirmés par le coefficient de consanguinité f (0,014) qui est très proche du zéro ce qui signifie qu'il y a très peu de consanguinité entre les individus des accessions à l'exception de KST qui présente une valeur hautement positive de f (0,332) traduisant un déficit important en hétérozygote dues à une forte consanguinité entre les individus de cette accession.

- Diversité génétique totale

En moyenne 211,93 individus ont été génotypés par locus et un total de 91 allèles détectés pour les 16 SSR's, avec en moyenne 5,687 allèles par locus. Ce résultat est, plus de deux fois, supérieur à celui observé par **Wietholter et al. (2008)**, qui rapportent en moyenne 2,7 allèles par locus en analysant 37 accessions de maïs au Brésil avec 21 SSR's. Les SSR's étant des marqueurs moléculaires très polymorphes, ces auteurs expliquent ce faible nombre d'allèles, entre autre, par l'utilisation d'un gel d'agarose à 3%. En comparant leurs résultats avec d'autres études réalisées avec un gel de polyacrylamide, ils concluent que ce dernier est d'une plus grande résolution et présente une plus grande capacité pour la détection d'allèles avec seulement quelques paires de base de différence. Nos résultats sont également supérieurs à ceux estimés pour les 10 populations de maïs « Golden Queen » de Chine analysées par 52 microsatellites (nombre moyen d'allèles = 4,48) (**Liu et al. , 2009**). Il en est de même pour **Beyene et al. (2006)** qui, en analysant 62 accessions

traditionnelles de maïs en Ethiopie avec 20 SSR's, ont obtenu une moyenne de 4,9 allèles par locus. Toutefois, les résultats de **Morales et al. (2010)** en Argentine, sont assez proches des nôtres avec une moyenne de 5,14 allèles par locus pour 25 lignées pures de maïs analysées avec 21 SSR's. **Vaz Patto et al. (2004)** au Portugal, ont obtenu des résultats comparables aux nôtres avec en moyenne 5,33 allèles par locus (54 lignées pures de maïs et 15 microsattellites).

La présente étude a révélé un nombre moyen d'allèles par locus supérieur à celui obtenu dans le cadre d'autres études (citées ci dessus). Cette comparaison suggère l'existence d'une base génétique très large en faveur des populations traditionnelles de maïs originaire du Sud Algérien, car malgré un nombre limité en populations et en marqueurs SSR les accessions étudiées ont montré un nombre moyen d'allèles égale à 5,687 par locus. Cette valeur est la plus élevée parmi tous les travaux concernant le maïs consultés.

Les 16 microsattellites affichent donc un taux élevé de polymorphisme (93 %) pour les accessions traditionnelles de maïs Sud-algériennes. Sur les 16 SSRs, seul un n'était pas polymorphe (umc1403) alors qu'il l'était dans l'étude menée par **Noldin Almiron (2008)** sur du maïs américain ou par **Romay et al. (2011)** sur du maïs espagnol. Ce résultat pourrait être expliqué par le fait que ce locus pourrait être lié à un gène constitutif en relation avec l'adaptation des toutes les accessions aux conditions environnementales du Sud Algérien, ce qui limiterait le taux de mutations dans cette région du génome, ou bien à l'étroite base génétique du matériel introduit en Algérie par rapport à la grande diversité existante en Amérique. Ce marqueur SSR n'est donc pas discriminant pour les 15 accessions de notre collection de maïs. Néanmoins, la variabilité observé avec les autres 15 loci est comparable ou même supérieure à celle trouvée chez les maïs américain et européen, indiquant que l'adaptation aux conditions écologiques du Sahara aurait généré une variabilité par mutation en relation avec les conditions de stress.

Par ailleurs, la proportion de loci polymorphes dépend du nombre de loci maïs, encore plus, du nombre d'individus analysés, comme cela fut expliqué plus haut. En effet, la chance d'observer un allèle de faible fréquence diminue lorsque la taille de l'échantillon analysée est réduite. Afin de remédier à toutes les erreurs d'estimations dues à l'échantillonnage et pour assurer plus de précision dans l'analyse génétique, **Barbosa-Neto et al. (1997)** ont montré l'utilité de choisir les marqueurs moléculaires, relatifs à différents loci, uniformément sur toute la longueur du génome pour les études de la diversité génétique. Globalement, ce sont les SSRs di-nucléotidiques qui ont montré le plus grand polymorphisme (phi036 et umc1225 avec 9 allèles chacun, umc1222 et umc1335 avec 8 allèles chacun). Ces marqueurs microsattellites sont réputés pour le nombre d'allèles qu'ils révèlent et qui est potentiellement large (**Vas Patto et al. , 2004 et Morales et al. , 2010**).

Pour l'ensemble des 16 loci, l' H_e totale (0,571) est supérieure à l' H_o totale (0,402) traduisant un écart positif suggérant un déficit en hétérozygotie dans la population totale et une déviation de l'équilibre de Hardy –Weinberg. Aussi la diversité génétique ($H_e = 0,571$) qui persiste dans notre collection de 15 accessions, rejoint celle observée pour les accessions argentines de maïs (0,571) (**Lia et al. , 2009**). Elle est également comparable à celle rapportée pour les 7 accessions du Paraguay (0,57) (**Noldin Almiron, 2008**). Cependant elle est inférieure à la diversité génétique retrouvée pour : les accessions suisse (0,78) (**Eschholz et al. , 2010**), portugaises (0,622) (**Vas Patto et al. , 2004**), les accessions chinoises (0,70) (**Yao et al. , 2008**) et (0,68) (**Liu et al. , 2009**) et les accessions indiennes du Nord Est de l'Himalaya (0,63) (**Sharma et al. , 2010**).

La moyenne du coefficient de consanguinité globale F est de 0,297. Ce résultat est supérieur à ceux rapportés par **Reif et al. (2006)** (0,24) et par **Lia et al. (2009)**

(0,22). Cet indice confirme les résultats obtenus pour l'He et Ho. La valeur de F suggère un déficit en Hétérozygote de la population totale, dont les loci umc1222, umc1545, phi036 et umc1327 sont en partie responsables avec des $F > 0,350$. La population totale s'éloigne par conséquent, de l'équilibre panmictique. Trois principaux facteurs, peuvent expliquer le déséquilibre observé. Il s'agit de facteurs génétiques, de l'existence d'allèle nuls et de l'effet Wahlund (Jordana et al., 2003). Le facteur génétique se traduirait par la présence d'une consanguinité excessive induisant la modification des fréquences génotypiques, ce qui se traduit par une perte de variabilité génétique au fil des générations. Les allèles nuls affectent ce déséquilibre par le fait qu'ils ne donnent lieu à aucune amplification lors de la PCR. Ces allèles sont la cause de délétions au niveau des amorces ou de mutations dans les séquences flanquantes du microsatellite (Laliberté, 1998). Dans notre cas, sur les 3760 individus analysés, seuls 369 ont présentés des allèles nuls, PCR ratée et/ou clichés illisibles, soit un taux de 9,81% qui est presque similaire à celui estimé par Reif et al. (2006) (10 %). Le dernier facteur rapporté à l'effet Wahlund est en relation avec l'excès d'homozygotes (ou un déficit en hétérozygotes) par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg qui traduit la subdivision de la population étudiée en plusieurs sous populations qui n'échangent pas ou peu de gamètes.

Les fréquences alléliques par locus (par marqueur microsatellite) montrent que les accessions MGH et KST détiennent le plus grand nombre d'allèles fixés (6 et 5 allèles, respectivement) alors qu'il y a 5 populations qui n'ont pas des loci fixés sauf umc1403 qui est fixé pour toutes les 15 accessions analysées ici. En outre, ces accessions (MGH et KST), en plus de KAL, comptent le plus grand nombre d'allèles dont les fréquences sont supérieures à 0,800 (8 allèles chacune), sans oublier que MGH est la deuxième accession ayant le plus grand nombre d'allèles (13 allèles) dont la fréquence est supérieure à 0,500 après SHH (16 allèles). Ces résultats démontrent que les accessions MGH et KST sont celles qui présentent la plus faible diversité génétique ce qui peut être expliqué, en grande partie, par la consanguinité importante présente au sein de ces deux accessions ($f = 0,165$ et $f = 0,332$, respectivement). Il faut aussi noter que les populations du Nord de l'Algérie (SHH et MGH) ont une très faible variabilité contrairement aux populations du Sud (IGS, GOL et BSA) qui présentent le maximum de variabilité. Ceci donne un aperçu sur la manière dont ces accessions sont cultivées. Il n'y a pas de doute sur le fait qu'il n'y ait pas d'échange de grains entre les fermiers et que chacune d'entre elles reste isolée ou cantonnée dans la palmeraie où elle est cultivée. Ceci rejoint parfaitement les déclarations des fermiers qui assurent que chacun d'eux multiplie ses propres semences et que, il est très rare (sauf cas de force majeure : perte totale causée par les rongeurs ou autre) de recourir à l'utilisation des semences d'un autre fermier. En effet, les fermiers renouvellent leurs semences de semestre en semestre (le maïs est cultivée dans le sud Algérien à deux période l'année : mars et Aout) à partir du même matériel récolté le semestre précédent et les graines semées doivent provenir généralement d'un nombre restreint d'épis. Les différences de variabilité entre les accessions se montrent aussi dans le nombre d'allèles rares qui est très variable entre 15 (BAB) et 2 (BTM). Une fois de plus, les populations du Nord sont peu variables alors que les plus variables sont dans le Sud ou dans la région d'Adrar.

Par ailleurs, les accessions GOL et LOM présentent 1 et 2 allèles fixés, respectivement. De plus ce sont les deux accessions ayant les nombres les plus faibles d'allèles dont les fréquences sont supérieures à 0,500 (7 et 8 allèles respectivement) et à 0,800 (1 et 3 allèles respectivement). Avec les plus haut taux d'Hétérozygotie espérée (0,621 et 0,513 respectivement) ce sont celles qui présentent la meilleure diversité génétique parmi les 15 accessions étudiées. Elles peuvent constituer la base de programme d'amélioration dans notre pays.

Un petit nombre d'allèles privés a été détecté au sein des 15 accessions de maïs : 2 pour AAS, 2 pour KST, 1 pour GOL, OBC, BSA et BAB. **Sharma et al. (2010)** rapportent un totale de 163 allèles privés pour 48 populations traditionnelles de maïs analysé par 42 microsatellites. Ils associent le nombre élevé d'allèles privés non seulement au fort taux de mutations dans les loci SSRs mais aussi à une possible sélection de ces allèles spécifiques dans certaines accessions qui serait (la sélection) associée à la morphologie et l'aire d'adaptation des accessions. En outre, **Beyene et al. (2006)** ont détecté un total de 26 allèles privés pour des populations de maïs collectées dans une région d'Ethiopie caractérisée par une faible pluviométrie et une période de végétation très courte. Ils considèrent que les agriculteurs de cette région ont sélectionné leurs populations en fonctions des conditions climatiques pendant plusieurs siècles et le grand nombre d'allèles privés trouvés confirme ce scénario. Il a été démontré que les SSRs sont sous l'influence de la sélection naturelle (**Vigouroux et al. , 2002, 2005**) et les accessions de notre collection présentant les allèles privés sont situées dans une région où persiste un climat Saharien caractérisé par une faible pluviométrie annuelle. Cela signifierait que les 8 allèles privés des loci SSR retrouvés dans les accessions Sud-Algériennes ont probablement pu être sélectionnés dans un environnement de déficit hydrique. Cette hypothèse mérite d'être vérifiée, si elle s'avère vraie, elle pourrait révéler des gènes candidats pour la tolérance aux conditions de stress hydrique.

2.2. Diversité inter-accession

- Structure des populations

Considérée comme des espèces allogames présentant un brassage génétique permanent, les populations de maïs seraient en conformité avec la loi de panmixie de Hardy – Weinberg. Cependant, de nombreuses études ont pu prouver le contraire (**Yao et al. , 2008, Lia et al. , 2009 et Liu et al. , 2009**). C'est le cas aussi avec les résultats obtenus dans le cadre de la présente étude. Effectivement, dans notre collection 9 accessions sur 15 présentent une déviation de l'équilibre de Hardy –Weinberg dont 3 avec un excès très prononcé en homozygotes. Ce résultat s'explique, également par l'effet des trois facteurs cités plus haut pour le coefficient de consanguinité globale (**F**).

La valeur moyenne de **Fis** (0,0045) indique un déficit en hétérozygotes moins important au niveau des sous-accessions que dans la population totale (**Fit** = 0,312). En effet, la valeur de l'indice **Fit** indique un déficit en hétérozygotes de 31,2% pour la totalité des 15 accessions. La différenciation moyenne entre toutes les sous-accessions est exprimé par la valeur de **Fst** (= 0,309), c'est une valeur importante qui indique, d'une part une structuration moyennement importante des accessions issues du Sud algérien signifiant que la diversité génétique inter-accession est responsable à 30,9 % de la diversité génétique totale. Par conséquent la variabilité totale provient d'avantage de la variabilité intra-accession avec un taux de 69,1%. Ces résultats corroborent ceux obtenus par **Yao et al. (2008)** dans le fait que la diversité totale est expliquée en majorité par la diversité intra-accessions (87 %). Cependant, la structure génétique de leurs accessions était très différente de celle de nos 15 accessions. Leur valeur moyenne de **Fis** était de 0,41 traduisant un déficit en hétérozygotes très fort au niveau des sous populations mais qui était moins important dans la population globale (**Fit** = 0,50) et la différenciation moyenne, entre leurs sous populations, **Fst** était de 0,13.

Les indices de fixation et les déviations de l'équilibre H-W chez les populations naturelles de maïs sont normalement expliqués par la dérive génétique causée par l'emploi de petits échantillons pour la multiplication ou bien par le croisement entre individus

similaires en floraison (assortative matting) qui augmente ainsi le nombre d'homozygotes (**Labate et al. , 1997 et Hinze et al. , 2005**). En fait, le croisement chez les populations naturelles ne se produit pas normalement au hasard (non-random matting) et les valeurs de fixation sont d'habitude supérieures à 0,05 (**Rossini Pinto et al. , 2003**).

- Distances génétiques

Les distances génétiques obtenues sont assez grandes pour dire qu'il y a une large base génétique pour établir un programme d'amélioration avec des populations génétiquement éloignées, peut-être même, complémentaires. **Hinze et al. (2005) et Romay et al. (2011)** ont trouvé des distances plus réduites entre les populations américaines ou espagnoles employées pour la sélection récurrente réciproque. Les distances génétiques observées entre les accessions algériennes ne sont pas totalement associées à l'origine géographique, par exemple, les populations TAO et BTM sont génétiquement très éloignées, mais pas tellement géographiquement, alors que les populations MST et OBC qui sont presque à la même distance géographique que TAO et BTM sont les plus proches du point de vue génétique.

Il y a des populations qui ont des distances moyennes avec toutes les autres accessions, particulièrement AAS et BAB. La population BTM est génétiquement éloignée d'un grand nombre d'accessions et n'est proche d'aucune accession alors que OST est proche de trois accessions et n'est loin d'aucune. Les populations SHH et IGS, très éloignées géographiquement, elles sont singulières aussi du point de vue des distances génétiques. De l'autre côté, MGH, qui est aussi géographiquement isolée, elle se retrouve très proche de KST. Finalement, des populations comme TAO et BTM qui sont dans le centre de l'aire d'échantillonnage, sont assez différentes de leurs voisins.

Dans le dendrogramme obtenu grâce à la méthode UPGMA à partir de la distance de Nei (1978) nous pouvons remarquer en premier lieu que l'accession IGS, constituant le cluster III, elle se distingue génétiquement de toutes les autres accessions. Cette accession est géographiquement isolée du reste des accessions analysées, c'est la seule, parmi les 15, à avoir été collectée dans la wilaya de Tamanrasset (limite sud de la zone de collecte). Cette accession serait constituée d'un matériel génétique unique à cause d'une part de sa localisation géographique qui peut être un obstacle à tout échanges de semences entre les différents agriculteurs et d'autre part, l'adaptation de cette accession aux conditions environnementales de sa région d'origine la différenciant, ainsi, des autres accessions.

Dans le deuxième cluster (II), on peut voir que l'accession SHH (wilaya de Saida) est, après IGS, la plus éloignée génétiquement des autres accessions. Cela serait dû à son éloignement géographique aussi. En effet, cette accession a été collectée à la limite nord de la zone de collecte. La zone de collecte est très large, par conséquent il existe un contraste climatique très prononcé entre le nord et le sud de cette zone induisant des différences d'adaptations entre les populations de maïs cultivées dans les différentes régions de la zone de collecte. Selon **Bogyo et al. (1990)**, le moyen le plus efficace pour capturer la diversité génétique est de collecter le gémplasma dans des environnements contrastés.

Toujours dans le deuxième cluster (II), les accessions OBC et MST présentent la plus petite distance génétique, ce sont les accessions les plus proches génétiquement l'une de l'autre. Elles constituent un même et unique matériel génétique malgré leur appartenance à deux régions différentes. D'un autre côté, nous observons que l'accession KST originaire d'Adrar est génétiquement semblable à l'accession MGH originaire d'El oued Souf. Comme nous pouvons le constater, ces deux régions sont très éloignées géographiquement et la probabilité d'un éventuel échange de semence est très mince, cela nous amène à penser

que ces deux accessions pourraient avoir un ancêtre commun. En outre, OST et KAL attirent l'attention. Elles sont génétiquement identiques et ont été collectées dans deux localités voisines donc il n'y a pas de doute sur le fait qu'elles proviennent d'un matériel génétiquement proche qui pourrait être expliqué par un échange de semence entre les fermiers des deux localités.

L'analyse plus détaillée des clusters I et II montre les accessions originaires des wilayas de Adrar et Bechar sont très proches génétiquement. Dans le premier cluster AAS et BAB sont génétiquement identiques et il en est de même pour BSA et LOM. Dans le deuxième cluster (II) les accessions OBC et MST le sont aussi. Ce résultat suggère un échange possible de semences entre ces deux régions (proximité géographique). En outre, ces deux régions sont situées sur un axe de caravanes reliant Adrar vers le Nord du Maroc en passant par Bechar (et vis versa). Des échanges anciens de semences de maïs auraient été opérés ainsi entre ces régions.

La répartition des accessions dans les clusters II et III est, globalement, fonction de l'origine des accessions. Ainsi, 5 accessions sur 8 dans le cluster II ont été collectées dans des localités voisines de la wilaya d'Adrar et IGS qui constitue le troisième cluster représente à elle seule la wilaya de Tamanrasset. En effet, ce phénomène a été observé par **Beyene et al. (2006)** révélant que les distances génétiques entre les accessions confirment que les accessions issues de différentes zones agro-écologiques sont génétiquement plus éloignées que celles originaires de la même zone. Cependant la structure du cluster I n'est pas claire dans le sens où le regroupement des accessions au sein de ce cluster n'obéit pas à leur répartition géographique.

Il ne faut pas oublier que nous n'avons étudié que 15 populations qui ne sont pas très variables du point de vue morphologique, selon les distances génétiques et le dendrogramme, nous pourrions proposer l'existence de trois à sept groupes de germplasm de maïs bien différenciés génétiquement. Si on ne considère que trois groupes ceux-ci correspondraient aux groupes : du Nord, de l'extrême Sud et celui se trouvant entre les deux. Aucune différence n'a été mise en évidence entre les accessions de l'Est et celles de l'Ouest. Ceci indiquerait que la variabilité génétique observée chez le maïs en Algérie obéirait plus à un gradient de latitude que de longitude. Les hypothèses sur l'origine historique compatibles avec ces résultats suggéreraient que les introductions de maïs en Algérie seraient faites à partir du Nord (Espagne, Turquie ou France), de l'Ouest ou même du Sud (Afrique subsaharienne = maïs d'origine portugaise).

Il faudrait approfondir l'étude sur les populations, surtout dans le Sud du pays pour arriver à des conclusions définitives quant à l'histoire de son introduction et pour chercher des allèles potentiellement favorables pour la tolérance aux stress.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude offrent une première estimation de la diversité génétique et morphologique du maïs en Algérie. La caractérisation morphologique préliminaire a permis de constater que la majorité des populations de maïs dans notre pays ont un grain de type lisse et des épis de forme conique. Par ailleurs, ces populations ont montré un certain polymorphisme de couleur du grain. Néanmoins, l'ACP a révélé que ces trois descripteurs qualitatifs n'ont été discriminants que pour 50 % des accessions et aucune corrélation significative entre les trois descripteurs n'a été enregistrée.

En outre, nous avons mis en évidence trois groupes morphologiques ne correspondant, généralement pas à la répartition géographique des accessions. Le groupe 1 constitué des accessions ayant des grains en ségrégations de couleurs, le groupe 2 regroupant les accessions ayant des épis de forme cylindrique et le groupe 3 subdivisé en trois sous groupes regroupant les accessions de couleur de grain orange, celles dont les grains sont de couleur jaune et enfin celles dont les grains ont une couleur jaune/orange.

La quantification des ADN a permis de différencier les accessions du sud de la zone de collecte de celles du nord. Il a clairement été mis en évidence que les accessions du Sud de l'aire de collecte fournissaient de jeunes semis de petite taille reflétant ainsi les faibles quantités d'ADN obtenues pour celles-ci.

L'analyse de la diversité génétique par les 18 marqueurs SSRs a permis de mettre en exergue une grande variabilité génétique au sein de notre collection. Cette étude nous a permis de distinguer les accessions MGH et KST qui présentent la diversité génétique la plus faible et GOL et LOM qui sont caractérisées par une très grande diversité génétique comparées autres accessions. Ces deux dernières constituent un très bon matériel pour entamer un programme d'amélioration du maïs dans notre pays. Le petit nombre d'allèles privés (8) retrouvés dans notre collection prouve que la culture du maïs est assez ancienne dans le Sud de l'Algérie, assez longtemps d'ailleurs pour que la plante s'adapte à des pressions sélectives diverses (anthropique et environnementale). Ceci peut également être expliqué aussi par une étroite base génétique.

Concernant la structure génétique des accessions, il a été possible de révéler la déviation de la majorité des accessions de l'équilibre de Hardy-Weinberg notamment KST qui s'en éloigne excessivement. Il a été, également, possible de décomposer la variabilité génétique dans notre collection, cette variabilité est principalement due à la diversité intra-population avec un taux de 69,1 %, la diversité inter-population y participe avec un taux 30,9 %.

Les distances génétiques ont par ailleurs, permis de mettre en évidence un lien entre les accessions de la wilaya d'Adrar et celles de la wilaya de Bechar et que IGS détient un pool génétique à part. Les nombreuses similarités génétiques enregistrées entre certaines accessions confirment bien le fait que la diversité inter-accession ne participe qu'avec 30,9 % dans la diversité totale.

Les marqueurs microsatellites utilisés ont permis aussi de faire une bonne estimation de la diversité génétique à travers les 15 accessions représentant les maïs ancestraux cultivés dans le Sud du pays. Les résultats obtenus sont prometteurs, vu le bon niveau

de diversité génétique enregistré avec les 15 accessions mais ils sont loin de représenter toute la diversité du maïs cultivé dans nos régions du Sud. Qu'en serait-il si la totalité des accessions collectées avaient toutes été analysées?

Nous préconisons de poursuivre la caractérisation génétique du reste des accessions, mais aussi d'élargir la prospection et la collecte à bien d'autres régions non prospectées à ce jour. Par ailleurs, la caractérisation morphologique de nos maïs doit être également entreprise en se basant sur les descripteurs en vigueur élaborés par le CIMMYT. Il ne faut pas non plus perdre de vue l'objectif principal à moyen terme, celui de constituer une « core collection » seule garante de la pérennité de la diversité retrouvée. Celle-ci fournira aussi le matériel de base pour les futurs programmes de création variétale.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments), 2005.** Bénéfices et risques liés aux applications du clonage des animaux d'élevage. Ed. C. Thomam, 57 P.
- Aguirre G. J. A, Bellon M. R., et Smale M., 1998.** A regional Analysis of Maize Biological Diversity in Southeastern Guanajuato, Mexico. CIMMYT Economics Working Paper. Mexico, p.p.: 98-06.
- Amirouche R. et Misset M. T., 2009.** Flore spontanée d'Algérie : différenciation éco-géographique des espèces et polyploïdie. Cahiers Agricultures, vol. 18, n. 6, p.p. : 474-480.
- Australian Government, 2008.** Biology of *Zea mays* L. ssp *mays* (maize or corn). Office of the gene technology regulator, 80 P.
- Baccini A., 2010.** Statistiques Descriptives Multidimensionnelles (pour les nuls). Institut de mathématiques de Toulouse, 33 P.
- Barbosa-Neto J. F., Hernandez C.M., O'Donoghue L. S. et Sorrells M. E., 1997.** Precision of genetic relationship estimates based on molecular markers. Euphytica, vol. 98, p.p.: 59-67.
- Bassaler N., 2000.** Le maïs et ses avenir. Cahier n. 13 du LIPS. GERPA, 47 P.
- 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, 224 P.
- Beadle G. W., 1939.** Teosinte and the origin of maize. *In* : The genetics of maize evolution. Doebley J., 2004. Anna Rev Genet, vol. 38, p.p. : 37-59.
- Beadle G. W., 1978.** Teosinte and the origine of maize. *In* : The genetics of maize evolution. Doebley J., 2004. Anna Rev Genet, vol. 38, p.p. : 37-59.
- Benzeghou M., 1976.** Situation de la culture du maïs en Algérie. Perspectives de développement. Mémoire de fin d'étude. Ministère de l'agriculture et de la réforme agraire, 121 P.
- Berg E. E. et Hamrick J. L., 1997.** Quantification of genetic diversity at allozyme loci. Can J for Res, vol. 27, p.p. : 415-424.
- Bernardo R., 1994.** Prediction of single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. *In* : Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD markers. Carvalho V.P., Ruas C.F., Ferreira J.M., Moreira R.M.P. et Ruas P.M., 2004. Genetics and Molecular Biology, vol. 27, n. 2, p.p. : 228-236.
- Beyene Y. Botha A.M. et Myburg A. A., 2005.** A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. African Journal of Biotechnology, vol. 4, n. 7, p.p. : 586-595.

- Beyene Y., Botha A. M. et Myburg A., 2006.** Genetic diversity among Ethiopian highland maize accessions assessed by simple sequences repeat (SSR) markers. *Genetic Resources and crop Evolution*, vol. 53, p.p. : 1579-1588.
- Biodiversity International, IRRI (International Rice Research Institut) et WARDA (African Rice Center), 2007.** Descriptors for wild and cultivated rice (*Oriza spp*). 63 P.
- Bogyo T. P., Porceddu E. et Perrino P., 1990.** Analysis of sampling strategies for collecting genetic material. *Econ. Bot.*, vol. 34, p.p. : 11-86
- 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.*, vol.9, p.p.: 72-75.
- Bruel D. C., Carpentieri-Pipolo V., Ruas C. F., Gerage A. G. et De Souza S.G.H., 2007.** Assesment of genetic diversity in maize inbred lines unusing RAPD markers. *Crop Breeding and Applied Biotech.*, vol. 7, p.p. : 173-178.
- Cai H. W., 2006.** Maize. Genome mapping and molecular breeding in plant: Cereals and Millet. Berlin, ed. C. Kole, vol. 1, p.p. : 135-153.
- Carvalho V.P., Ruas C.F., Ferreira J.M., Moreira R.M.P. et Ruas P.M., 2004.** Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD markers. *Genetics and Molecular Biology*, vol. 27, n. 2, p.p. : 228-236
- Chevalier A., 1932.** Les productions végétales du Sahara. *In* : Le maïs et sa culture en Algérie. Laumont P., 1950. Série économique : agriculture, n.75, 6 P.
- Chin E. C. L., Senior M. L., Shu H., Smith J. S. C., 1996.** Maize simple repetitive DNA sequences: abundance and allele variation. *Genome*, vol. 39, p.p. : 866-873.
- Choukan R., Hossainzadeh A., Ghannadha M. R., Warburton M.L., Talei A. R. et Mohammadi S.A., 2005.** Use of SSR data to determine relationships and potential heterotic groupings within medium to late maturing Iranian maize inbred lines. *Field Crops Research.*, vol. 95, p.p. : 212–222.
- CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center), 2000.** CGIAR Research, Areas of Research: Maize (*Zea mays* L.). *In* : Biology of *Zea mays* (Maize). India Government, 2011. Series of crop specific biology document, 30 P.
- CIMMYT et IBPGR, 1991.** Descriptors of maize. CIMMYT/IBPGR, Rome, 88 P.
- CMA/AOC, 2005.** Conférence des ministres de l'agriculture de l'Afrique de l'Ouest et du Centre. Filière maïs dans la zone AOC, note technique, 10 P.
- Collins G.N., 1919.** Structure of the maize ear as indicated in *Zea Euchlaena* hybrids. *In* : the genetic of maize evolution. Doebley J. F., 2004. *Annu. Rev. Genet.*, vol. 38, p.p. : 37-59
- De Vienne D., Josse J.M., Maurice A., Causse M., Leonardi A., Touzet P. et al., 1994.** Marquange et expression du génome chez le maïs. *Genet Sel Evol*, vol. 26, suppl. 1, p.p. : 21-34.
- Demeke T., Sasikumar B., Huci P. et Chibbar R. N., 1997.** Random amplified polymorphic DNA (RAPD) in cereal improvment. *Maydica*, vol.42, p.p. : 133-142

- Desjardins A.E. et McCarthy S. A., 2004.** Maize in the Southern Asian archipelago and Australia. *In*: Biology of *Zea mays* L. ssp *mays* (maize or corn). Australian Government, 2008. Office of the gene technology regulator, 80 P.
- Djemel A., Revilla P., Hanifi-Mekliche L., Malvar R. A., Alvarez A. et Khelifi L., 2011.** Maize (*Zea mays* L.) from the Saharan oasis: adaptation to temperate areas and agronomic performance. *Genet. Resour. Crop. Evol.*, 12 P. Doi 10.1007/s10722-011-9778-2.
- Doebley J. F. et Iltis H. H., 1980.** Taxonomy of *Zea* (Gramineae): I. A subgeneric classification with key to taxa. *Am J Bot.*, vol. 67, p.p. : 982– 993.
- Doebley J. F., Goodman M.M. et Stuber C.W., 1984.** Isozymic variation in *Zea* (gramineae). *Syst. Bot.*, vol. 9, p.p. : 203-218.
- Doebley J. F. , 1990.** Molecular evidence and the evolution of maize. *Economic Botany*, vol. 44, (suppl. 3), p.p. : 6-27.
- Doebley J. F. et Stec A., 1991.** Genetic analysis of the morphological differences between maize and teosinte. *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.
- Doebley J. F., 2004.** The genetic of maize evolution. *Annu Rev Genet*, vol. 38, p.p. : 37-59
- Dowswell C. R., Paliwal R.L. et Cantrell R.P., 1996 .** Maize in the Third World. *In* : Biology of *Zea mays* (Maize).India Government, 2011. Series of crop specific biology document, 30 P.
- Dubreil P. et Charchosset A., 1998.** Genetic diversity within and among maize populations : a comparison between isozyme and molecular RFLP loci. *Theor. Appl. Genet.*, vol. 96, p.p. : 577-587
- Duval J., 1856.** Production et commerce des céréales en Algérie. *In* : Le maïs et sa culture en Algérie. Laumont P., 1950.Série économique : agriculture, n.75, 6 P.
- Ellis T. H. N., Knox M. R. et Mackay I., 2005.** Molecular marker techniques for crop improvement Part II: genetic mapping. Cours manual. University of Agriculture Sciences, Bangalore, India. Ed Kirkhouse trust, 18 P.
- Emerson R. A. et Beadle G. W., 1932.** Studies of *Euchlaena* and its hybrids with *Zea*. II. Crossing over between the chromosomes of *Euchlaena* and those of *Zea*. *Z Indukt Abstamm Ver*, vol. 62, p.p. : 305-315.
- Eschholz T. W., Stamp P., Peter R., Leipner J. et Hund A., 2010.** Genetic structure and history of Swiss maize (*Zea mays* L. ssp. *mays*) landraces. *Genet Resour Crop Evol*, vol. 57, p.p. : 71-84.
- FAO , 1996.** Rapport sur l'état des ressources phytogénétiques dans le monde. Rome, Italy, 72 P.
- FAOstat, 2011.** <http://www.faostat.fao.org> (consulté le : 06-09-2011).
- Fare Y. C., 2004.** Expérimentation agronomique et compréhension des systèmes de production paysanne en vue du développement de la culture du maïs (*Zea mays* L.) dans la région d'Ambohidratino. Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie. Université d'Antananarivo, Madagascar, 91 P.

- Farnham D. E., Benson G. O. et Pearce R. B., 2003.** Corn perspective and culture. *In* : Biology of *Zea mays* L. ssp *mays* (maize or corn). Australian Government, 2008. Office of the gene technology regulator, 80 P.
- Foulley J. L. et Ollivier L., 2006.** Diversité génétique et richesse allélique : concepts et application à des races bovines. Renc. Rech ; Ruminants, n. 13, p.p. : 227-230
- 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. Plante Breeding Abstracts, vol. 65, n. 8, p.p. : 1125-1133.
- Galinat W. C., Chaganti R. S. K. et Hager F.D., 1964.** Tripsacum as possible amphidiploïd of wild maize and Manisuris. *In* : The evolution of corn and culture in North America. Galinat W.C., 1965. Economic Botany, vol. 1, p.p. : 350-357.
- Galinat W. C., 1965.** The evolution of corn and culture in North America. Galinat W.C., 1965. Economic Botany, vol. 1, p.p. : 350-357.
- Galinat W. C., 1988.** The origin of corn. *In* : The genetics of maize evolution. Doebley J., 2004. Anna Rev Genet, vol. 38, p.p. : 37-59.
- Garcia A . A. F., Benchimol L. L., Barbosa A. M. M., Geraldi I. O. Souza C. L. et De Souza A. P., 2004.** Comparison of RAPD , RFLP, AFLP, and SSR marker for diversity studies in tropical maize inbred lines. Genetics and Molecular Biology, vol. 27, n. 4, p.p. : 579-588.
- Gerber S., Mariette S., Streiff R., Bodénès C. et Kremer A., 2000.** *In* : Comparison of RAPD , RFLP, AFLP, and SSR marker for diversity studies in tropical maize inbred lines. Garcia A . A. F., Benchimol L. L., Barbosa A. M. M., Geraldi I. O. Souza C. L. et De Souza A. P., 2004. Genetics and Molecular Biology, vol. 27, n. 4, p.p. : 579-588.
- 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., vol. 30 (suppl. 1), p.p.: 15-28.
- Gonzales-Candelas F. et Palacios C., 1995.** Analysing molecular data for studies of genetic diversity. *In* : Caractérisation agro-morphologique et moléculaire d'une collection de landraces péruviennes de pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) pour l'analyse de sa diversité. Bautista-Salas, 2009. Thèse de doctorat. Faculté universitaire Notre Dame de la paix. Namur, Belgique, 224 P.
- Gothardo M. et Heidrich–Sobrinho E., 1982.** The use of isozymes as genetic markers for the identification of tow Popcorn populations and for relating heterosis to genetic diversity expressed by F1 heterozygosis. Brasil Genet, vol. 4, p.p. : 725-735.
- Hamrick J. L. et Godt J. W., 1997.** Allozyme diversity in cultivated crops. Crop Sci, vol. 37, p.p. : 26-30.
- 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, vol. 45, p.p.: 2435-2443
- 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, vol. 45, p.p. : 1891-1900.

- Hopkinson D. et Withehouse D., 2000.** An introduction to genetic polymorphism. *In*: Human Blood Cells. Consequences of genetic polymorphisms and variabilities. Ed. May-Jean King, IPC , 420 P.
- Hubert P., 1978.** Recueil de fiches techniques d'Agriculture spéciale à l'usage des lycées agricoles à Madagascar. BDPA.
- Hunter R. B. et Kannenberg L. W., 1971.** Isozyme caracterisation of corn (*Zea mays* L.) inbreds and its relationship to single cross hybrid performance. *Can. J. Genet. Cytol.*, vol. 3, p.p. : 649-655.
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) et CEC (Commission of the European Communities), 1985.** Descriptors for Wheat. 12 P.
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) et ICRISAT (International Crop Research Institut for Semi-Arid Tropics), 1993 ¹ .** Descriptors for pearl millet. 43 P.
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources) et ICRISAT (International Crop Research Institut for Semi-Arid Tropics), 1993 ² .** Descriptors for Sorghum. 38 P.
- IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources), ICRISAT (International Crop Research Institut for Semi-Arid Tropics) et ICARDA (International Center for Agricultural Research in Dry Areas), 1999.** Descriptors for Chickpea (*Cicer arietinum* L.). 31 P.
- Ignjatovic-Micic D., Mladenovic Drinic S., Nikolic A. et Lazic-Jancic V., 2007.** comparison of AFLP and SSR markers for genetic diversity studies in maize populations. *Maydica*, vol. 52, p.p. : 399-406.
- Iltis H. H. et Doebley J. F., 1980.** Taxonomy of *Zea* (Gramineae). II. Subspecific categories in the *Zea mays* complex and a generic synopsis. *Amer. J. Bot.*, vol. 67, n. 6, p.p.: 994-1004.
- 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.
- India Government, 2011.** Biology of *Zea mays* (Maize).Series of crop specific biology document, 30 P
- IPGRI (International Plant Genetic Resources Institute), 1994.**Descriptors for Barley. 46 P.
- Jambrovic A., Simic D, Ledencan T., Zdunic Z. et Brkic I., 2008.** Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) inbred lines in Eastern Croatia. *Period Biol*, vol. 110, n. 3, p.p.: 251-255.
- Jarne P. et lagoda P.J. L . , 1996.** Microsatellites, from molecules to populations and back. *Tree*, vol. 11, n. 10, p.p. : 424-429.
- Jordana J., Alexandrino P., Beja-Pereira A., Bessa I., Canon J. et al. , 2003.**Genetic structure of eighteen local south European beef cattle breeds by comparative F-statistics analysis. *J. Anim. Breed. Genet.*, vol. 120, p.p. : 73-87

- Jourcin A., 1964.** L'histoire. *In* : Expérimentation agronomique et compréhension des systèmes de production paysanne en vue du développement de la culture du maïs (*Zea mays* L.) dans la région d'Ambohidratino. Fare Y. C., 2004. Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie. Université d'Antananarivo, Madagascar, 91 P.
- Karanja J., Amugune N. O., Ininda J., Kimatu J. N. et Danson J. W., 2009.** Microsatellite analysis of the correlation between molecular and morphological traits in assorted maize inbred lines. *African Crop Science Journal*, vol. 17, n. 3, p.p.: 133-144.
- Karp A., Edwards K., Bruford M., Vosman B., Morgante M. et al., 1997.** Newer molecular technologies for diversity evaluation: opportunities and challenges. *In* : comparison of AFLP and SSR markers for genetic diversity studies in maize populations. Ignjatovic-Micic D., Mladenovic Drinic S., Nikolic A. et Lazic-Jancic V., 2007. *Maydica*, vol. 52, p.p. : 399-406.
- Kato T. A., 1976.** Cytological studies of maize (*Zea mays* L.) and Teosinte (*Zea mexicana* Schrader, Kuntze) in relation to their origine and evolution. *In* : the genetics of maize evolution. Doebley J., 2004. *Anna Rev Genet*, vol. 38, p.p. : 37-59
- Konate I., 2007.** Diversité phénotypique et moléculaire du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) et des bactéries qui lui sont Associées. Thèse de doctorat en Biotechnologie et biologie moléculaire. Université Mohammed V-AGDAL, Rabat, Maroc, 196 P.
- Labate J.A., Lamkey K.R., Lee M. et Woodman W.L., 1997.** Molecular genetic diversity after reciprocal recurrent selection in BSSS and BSCB1 maize populations. *Crop Science*, vol. 37, p.p. : 416-423.
- Laliberté H. Y., 1998.** Caractérisation de la variabilité et des distances génétiques des bovins de race canadienne, suisse-brune et Holstein à l'aide du polymorphisme des caséines et de marqueurs microsatellites. Mémoire de maîtrise en science biologiques. Université de Sherbrooke, Québec, Canada, 74 P.
- Lamara M., 2010.** Analyse comparative de la diversité génétique et de la structure des populations chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) à l'aide de marqueurs SSRs, DART et du pedigree. Mémoire de maitrices en sciences (biologie végétale). Université Laval, Québec, Canada, 62 P.
- Lanteri S. et Barcaccia G., 2005.** Molecular markers based analysis for crop germplasm preservation. *The role of Biotechnology*, Villa Gualino, Turin, Italy, 5-7 mars, p.p.: 55-66.
- Laumont P., 1950.** Le maïs et sa culture en Algérie. Série économique : agriculture, n.75,6 P.
- Lazarova R., Bensid A. et Bahaz S., 1988.** Etude des ressources génétiques de quelques espèces céréalières dans la région des Aures. *Ann Inst Nat Agro El Harrach*, vol. 12, n. 1, T. 1, 122 P.
- Lazrek-Ben Friha F., 2008.** Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTLs liés au stress salin. Thèse de doctorat en Biologie. Université de Toulouse III, France, 254 P.

- Lee M., Goldhalk F. B., Lamkey K. R. et Wodmar W. W., 1989.** Association of restriction fragment length polymorphism (RFLP) among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop Science*, vol. 29, p.p. : 1067-1071.
- Lewis P. et Zaykin D., 2002.** Genetic data analysis (GDA) : User's manual. URL : <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html> .
- Lia V. V., Poggio L. et Confalonieri V. A., 2009.** Microsatellite variation in maize landraces from North Western Argentina : genetic diversity, population structure and racial affiliations. *Theor Appl Genet*, vol. 119, p.p. : 1053-1067.
- Liu Z., Guo R., Zaho J., Cai Y., Wang F., Cao M., Wang R. et al. , 2009.** Genetic diversity of tow important groups of maize landraces with the same name in China releaved by M13 Tailed-Primers SSRs. *Agricultural Sciences in China*, vol. 8, n. 1, p.p. : 15-23.
- Liu Y. G. et Whittier R. F., 1994.** Rapid preparation of megabase plant DNA from nuclei in agarose plugs and microbeads. *Nucleic Acids Research*, vol. 22, n. 11, p.p. : 2168-2169.
- Longley A. E., 1941.** Chromosome morphology in maize and its relatives. *In* : the genetics of maize evolution. Doebley J., 2004. *Anna Rev Genet*, vol. 38, p.p. : 37-59
- Mangelsdorf P. C. et Reeves R. G., 1939.** The origine of Indian corn and its relatives. *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.
- Matsuoka Y., Vigouroux Y., Goodman M. M., Sanchez J., Buckler E. et Doebley J., 2002.** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 99, p.p. : 6080-6084.
- Mburu D. et Hanotte O., 2005.** A practical approach to microsatellites genotyping with special reference to livestock population genetics. ILRI, Nairobi, Kenya, 82 P.
- Moeller D. A. et Schall B. A., 1999.** Genetic relationships among native American maize accessions of the great plains as assessed by RAPDs. *Theoretical and Applied Genetic*, vol. 99, p.p. : 1061-1067.
- Morales M., Decker V. et Ornella L., 2010.** Analysis of genetic diversity in Argentinian Heterotic maize populations using molecular markers. *Ciencia e Investigacion Agregaria*, vol. 31, n. 1, p.p. : 151-160.
- Morgante M. et Olivieri A. M., 1993.** PCR amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant Journal*, vol. 3, n. 1, p.p : 175-182.
- Morris M. L., 1998.** Overview of the world maize economy. *In* : *Biology of Zea mays* (Maize). India Government, 2011. Series of crop specific biology document, 30 P.
- Moulet O., Fossati D. , Mascher F. et Schori A., 2008.** Les marqueurs moléculaires comme outils de la sélection de céréales. *Suisse Agric*, vol. 40, n. 3, p.p. : 133-138.
- Mudry P. et Kraic J., 2007.** Inter and intra-population variation of local maize (*Zea mays* L.) populations from Slovakia and Czech republic. *Czech Journal Genetic Plant Breed*, vol. 43, n. 1, p.p. : 7-15.

- Nei M., 1973.** Analysis of gene diversity in subdivided populations. Proc Natl Acad Sci USA, vol. 70, n. 12, p.p. : 3321-3323.
- Nei M., 1978.** Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, vol. 89, p.p. : 583-590
- Noldin Almiron O. J., 2008.** Análisis multivariante de la colección nuclear de la raza Avati Morotí de Paraguay. Mémoire de DEA en agronomie. Université de Vigo, Espagne, 58 P.
- Nordborg M., Hu T. T., Ishino Y., Jhaveri J., Toomajian C., Zheng H. et al., 2005.** The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana*. PLoS Biology, vol. 3, n. 7, p.p. : 196
- OECD : 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, 49 P.
- Okumus A., 2007.** Genetic variation and relationship between Turkish flint maize landraces by RAPD markers. American Journal of Agriculture and Biological Sciences, vol.2, n. 2, p.p.: 49-53.
- Ould Ahmed M., 2009.** Caractérisation de la population des dromadaires (*Camelus dromedarius*) en Tunisie. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Université du 7 novembre, Carthage, 172 P.
- Painting K. A., Perry M. C., Denning R. A. et Ayad W. G., 1993.** Guide de documentation des ressources génétiques : méthode d'autoformation pour la compréhension, l'analyse et l'utilisation de la documentation des ressources génétiques. URL: http://pdf.dec.org/pdf_docs/Pnach898.pdf . **In** : Caractérisation agro-morphologique et moléculaire d'une collection de landraces péruviennes de pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.) pour l'analyse de sa diversité. Bautista-Salas, 2009. Thèse de doctorat. Faculté universitaire Notre Dame de la paix. Namur, Belgique, 224 P.
- Paliwal R. L., 2000.** Seeds production. **In** : Biology of *Zea mays* L. ssp *mays* (maize or corn). Australian Government, 2008. Office of the gene technology regulator, 80 P.
- Piperno D. R. et Flannery K. V., 2001.** The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico : New accelerator mass spectrometry dates and their implications. PNAS, vol. 98, n. 4, p.p. : 2101-2103.
- Primmer C. R., Ellengren H. Saino N. et Moller A. P., 1996.** Directional evolution in germline microsatellite mutations. Nat Genet, vol. 13, p.p. : 391-393.
- Raharinirina V., 2005.** Les débats autour de la valorisation économique de la biodiversité et de la bioprospection en Afrique : le cas de Madagascar. Cahier de GEMDEV, n. 30- Quel développement durable pour les pays en développement ?, 27 P.
- Rahel-Bouziiane H. et Feliachi K., 2006.** Le maïs (*Zea mays* L.) « Kbal ». INRAA, n. 4, p.p. : 26-27.
- Razafimbelo J. E., 1995.** Analyse des méthodes d'améliorations variétale du maïs et de production de semence pratiquées à Madagascar. **In** : Expérimentation

- agronomique et compréhension des systèmes de production paysanne en vue du développement de la culture du maïs (*Zea mays* L.) dans la région d'Ambohidratino. Fare Y. C., 2004. Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie. Université d'Antananarivo, Madagascar, 91 P.
- Rebourg C., Gouesnard B. et Charcosset A., 2001.** Large scale molecular analysis of traditional European maize populations relationships with morphological variation. *Heredity*, vol. 86, p.p. : 574-587.
- Rebourg C., Chastanet M., Gouesnard B., Welcker C., Dubreuil P. et Charcosset A., 2003.** Maize introduction into Europe: The history reviewed in the light of molecular data. *Theor Appl Genet*, vol. 106, p.p. : 895-903.
- Reif J. C., Warburton M. L., Xia X. C., Hoisington D. A., Crossa J., Taba S. et al. , 2006.** Grouping og accessions of Mexico races of maize revisited with SSR markers. *Theor Appl Genet*, vol. 113, p.p. : 177-185
- Revilla P., Soengas P., Cartea M. E., Malvar R. A. et Ordàs A., 2003.** Isozyme variability among European maize populations and the introduction of maize in Europe. *Maydica*, vol. 48, p.p. : 141-152.
- Roldan-Ruiz L., De Riek J., Muylle H., Baaert J., Ghesquière A. et Vandewalle M., 2005.** Les marqueurs : quelles utilisations possibles en cultures fourragères ? *Fourrages*, vol. 183, p.p. : 419-438.
- Romay M. C. , Ordás B. , Revilla P. et Ordás A., 2011 .** Three Cycles of Full-Sib Reciprocal Recurrent Selection in Two Spanish Maize Populations. *Crop Science*, v ol. 51, n. 3, p.p.: 1016-1022
- Rossini Pinto L., Carneiro Vieira M.L., Lopes de Souza Jr. C. et Pereira de Souza A., 2003.** Genetic diversity assessed by microsatellites in tropical maize populations submitted to high-intensity reciprocal recurrent selection. *Euphytica*, vol. 134, p.p. : 277-286.
- Rousset F., (2008).** GENEPOP 4.1: manuel d'utilisation. URL: <http://genepop.curtin.edu.au/> .
- Saïdani M., 1977.** La culture du maïs. *Céréaliculture*, n. 4, 30 P.
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E. et Prat D., 2000.** Marqueurs moléculaires pour l'analyse et l'amélioration des plantes. *Cahiers Agricultures*, vol. 9, n. 4, p.p. : 311-327.
- Serratos-Hernandez J. A., 2009.** The origin and diversity of maize in the American continent. Ed. Green Peace, Mexico, 33 P.
- Sharma L., Prasanna B. M. et Ramesh B., 2010.** Analysis of phenotypic and microsatellite-based diversity of maize landraces in India, especially from the North East Himalayan region. *Genetica*, vol. 138, p.p. : 619-631.
- Studnicki M., Madry W. et Kociuba W., 2010.**The efficiency and effectiveness of sampling strategies used to develop a core collection for the Polish spring triticale (X triticale Wittm) germplasm resources. *Biometry and Crop Science*, vol. 5, n. 2, p.p. : 127-137.
- Taramino G. et Tingey S., 1996.** Simple sequence repeat for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome*, vol. 39, p.p. : 277-287

- Tautz D. et Renz M., 1984.** Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acid Research*, vol. 12, n. 10, p.p. : 4127-4138.
- Timesguida D. et Oulounis M., 1998.** Caractérisation chimique de quelques populations locales de maïs. Mémoire d'ingénieur d'état, Ecole National Supérieure d'Agronomie, 45 P.
- Touchard C., 2006.** Recherche de QTLs et choix de cibles stratégique pour l'amélioration de la tolérance aux basse températures chez le maïs. Thèse de doctorat. Université de technologie Compiègne, Picardie, France, 195 P
- USDA (United Stat Departement of Agriculture), 2005.** Germplasm resources information network (GRIN) [base de données en ligne]. (Consultée le : 07-03-2011), URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl>
- Van Hintum Th.J.L., Brown A.H.D., Spillane C. et Hodgkin T., 2000.** Core collections of plant genetic resources. IPGRI Technical BulletinNo. 3. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 48 P.
- Vaz Patto M. C., Satovic Z., Pêgo S. et Fevereiro P., 2004.** Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. *Euphytica*, n. 137, p.p. : 63-72.
- Vignal A., Milan D., San Cristobal M. et Eggen A., 2002.** A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet Sel Evol*, n. 34, p.p. : 275-305.
- Vigouroux Y., Mc Mullen M., Hittinger C. T., Houchins K., Schulz L., Kresovich S. et al ., 2002.** Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *Proc Natl Acad Sci*, n. 99, p.p.: 9650–9655
- Vigouroux Y., Mitchell S., Matsuoka Y., Hamblin M., Kresovich S., Smith J. S. C. et al ., 2005.** An analysis of genetic diversity across the maize genome using microsatellites. *Genetics*, n. 169, p. p.: 1617-1630.
- Vigouroux Y., Glaubitz J. C., Matsuoka Y., Goodman M. M., Sanchez G. J. et Doebley J., 2008.** Population structure and genetic diversity of New World maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany*, vol. 95, n. 10, p.p. : 1240-1253.
- Wang D., Shi J., Carlson S. R., Cregan P. B., Ward R. W. et Diers B. W., 2003.** A low cost, high-throughput polyacrylamide gel electrophoresis system for genotyping with microsatellite DNA markers. *Crop science*, n. 43, p.p. : 1828-1832.
- Watson L. et Dallwitz M. J., 1992.** Grass Genera of the World: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval; including Synonyms, Morphology, Anatomy, Physiology, Photochemistry, Cytology, Classification, Pathogens, World and Local Distribution, and References. *In* : *Biology of Zea mays* (Maize). India Government, 2011. Series of crop specific biology document, 30 P.
- Weatherwax et Randolph, 1955.** History and origin of corn. *In*: G. F. Sprague, ed. *Corn and Corn Improvement*. New York: Academic Press. pp. 1-18.
- Wietholter P., Cruz de Melo Sereno M. J., de Freitas Terra T., Delmar dos Anjos e Silva S. et Barbosa Neto J. F., 2008.** Genetic variability in corn landraces from Southern Brazil. *Maydica*, n. 53, p.p.: 151-159.

Wright S., 1978. Variability within and among natural populations. University of Chicago press. Chicago, USA, 580 P.

Yao Q., Fang P., Kang K. et Pan G., 2008. Genetic diversity based on SSR markers in maize (*Zea mays* L.) landraces from Wuling mountain region in China. Journal of genetics, vol. 87, n. 3, 5 P.

Sites Internet consultés:

www.transactiondalgérie.com

www.maizegdb.org .

[www.lepotager -demesreves.fr/Boutique/](http://www.lepotager-demesreves.fr/Boutique/)

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Maures>

[http://fr.wikipedia.org/wiki/Principe de Hardy – Weinberg](http://fr.wikipedia.org/wiki/Principe_de_Hardy_-_Weinberg)ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1

N	AAS	BAB	BSA	BTM	SHH	LOM	OBC	MST	TAO	GOL	IGS	OST	MGH	KAL	KST
	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}
1	99	92,4	185,4	544,8	472,2	228,6	408	25,6	86,4	265,6	104,8	0	728,8	26,4	243,2
2	447,6	198,6	245,4	791,4	112,8	264,6	148	52,8	355,2	440	84,8	78,4	674,4	18,4	18,4
3	484,2	50,4	30,6	473,4	609	312	180,8	48	72	135,2	72,8	62,4	124,8	92,8	115,2
4	185,4	136,2	196,2	642	670,2	337,2	96,8	223,2	153,6	371,2	43,2	52	90,4	20	80
5	66	69,6	26,4	396	330	255,6	604,8	475,2	378,4	284,8	483,2	280	252,8	56	15,2
6	111	10,2	0	697,2	561	310,2	1003,2	134,4	219	280	189,6	49,6	776	27,2	175,2
7	78,6	30,6	7,2	368,4	575,4	294,6	352	82,4	104,8	287,2	184,8	56,8	561,6	86,4	34,4
8	157,8	115,8	58,2	401,4	554,4	417,6	428	213,6	99,2	359,2	305,6	63,2	76	30,4	39,2
9	60,6	76,8	7,2	111	165	232,2	164	175,2	252	131,2	146,4	0	294,4	76,8	8,8
10	208,2	169,2	434,4	1476	260,4	357,6	157,6	66,4	313,6	249,6	180,8	102,4	300	30,4	154,4
11	118,2	162,6	124,2	650,4	709,2	232,2	368,8	177,6	426,4	364,8	145,6	24	489,6	67,2	145,6
12	363,6	28,2	0	468,6	479,4	266,4	807,2	105,6	248,8	349,6	109,6	47,2	173,6	44	26,4
13	155,4	20,4	162	622,8	273	231,6	353,6	188	33,6	319,2	474,4	62,4	167,2	16,8	104,8
14	223,8	5,4	12,6	441,6	145,8	435	384,8	24	323,2	320	429,6	104	85,6	-	48
15	144,6	11,4	155,4	450,6	458,4	291,6	138,4	119,2	148,8	4	463,2	212,8	-	-	41,6
16	188,4	14,4	0	358,2	214,8	279	337,6	0	329,6	399,2	472	35,2	-	-	61,6

Tableau 1: le volume d'eau distillée (V) en μl à ajouter à chaque échantillon d'ADN pour l'obtention de la concentration de 50 ng/ μl pour les 15 populations analysées à la MBG

Accessions	AAS	BAB	BSA	BTM	SHH	LOM	OBC	MST	TAO	GOL	IGS	OST	MGH	KAL	KST
Individus															
1	380	358	668	1866	1624	812	1070	114	266	714	312	44	1872	116	658
2	1542	712	868	2688	426	932	420	182	938	1150	262	246	1736	96	96
3	1664	218	152	1628	2080	1090	452	170	230	388	232	206	362	282	338
4	668	504	704	2190	2284	1174	292	608	434	978	158	180	276	100	250
5	270	282	138	1370	1190	902	1562	1238	996	762	1258	700	682	190	88
6	420	84	48	2374	1920	1084	2558	386	590	750	524	174	1990	118	488
7	312	152	74	1278	1968	1032	930	256	312	768	512	192	1454	266	136
8	576	436	244	1388	1898	1442	1120	584	298	948	814	208	240	126	148
9	252	306	74	420	600	824	460	488	680	378	416	26	786	242	72
10	744	614	1498	4970	918	1242	444	216	834	674	502	306	800	126	436
11	444	592	464	2218	2414	824	972	494	1116	962	414	110	1274	218	414
12	1262	144	28	1612	1648	938	2068	314	672	924	324	168	484	160	116
13	568	118	590	2126	960	822	934	520	134	848	1236	206	468	92	312
14	796	68	92	1522	536	1500	1012	110	858	850	1124	310	264	-	170
15	532	88	568	1552	1578	1022	396	348	422	60	1208	582	-	-	154
16	678	98	34	1244	766	980	894	36	874	1048	1230	138	-	-	204

Tableau 2: Concentrations en ADN génomique pur (ng/μl) pour chacun des 15 individus de chacune des 15 accessions traitées au niveau de la MBG.

N	TBN	ILT	TKR	IGR	KHL	GHM	TGN	LAH	FEZ
	DO	DO	DO	DO	DO	DO	DO	DO	DO
1	0,211	0,354	0,032	0,118	0,031	0,264	0,116	0,094	0,118
2	0,205	0,309	0,083	0,120	0,088	0,198	0,219	0,228	0,147
3	0,162	0,134	0,044	0,083	0,062	0,038	0,216	0,183	0,107
4	0,223	0,187	0,032	0,046	0,187	0,108	0,099	0,107	0,098
5	0,104	0,216	0,238	0,028	0,104	0,145	0,057	0,100	0,399
6	0,286	0,137	0,068	0,007	0,083	0,104	0,286	0,215	0,101
7	0,191	0,087	0,111	0,134	0,146	0,194	0,118	0,115	0,087
8	0,166	0,037	0,262	0,164	0,209	0,122	0,107	0,140	0,027
9	0,162	0,041	0,156	0,116	0,077	0,078	0,201	0,075	0,099
10	0,282	0,150	0,088	0,029	0,118	0,106	0,119	0,121	0,064
11	0,156	0,066	0,044	0,068	0,115	0,102	0,152	0,109	0,113
12	0,275	0,031	0,093	0,207	0,150	0,085	0,167	0,056	0,109
13	0,127	0,147	0,081	0,082	0,104	0,044	0,085	0,052	0,055
14	0,152	0,058	0,210	0,186	0,226	0,078	0,138	0,134	0,077
15	0,194	0,051	0,316	0,127	0,155	0,029	0,140	0,096	0,092

Tableau 3 : Les DO obtenues pour les 15 graines des 9 populations analysées au LRGB

Utilisation des marqueurs SSRs pour l'étude de la diversité génétique de quelques populations algériennes de maïs (*Zea mays* L.)

Accessions individus	TBN	ILT	TKR	IGR	KHL	GHM	TGN	LAH	FEZ
	1	316,5	531,0	48,0	177,0	46,5	396,0	174,0	141,0
2	307,5	463,5	124,5	180,0	132,0	297,0	328,5	342,0	220,5
3	243,0	201,0	66,0	124,5	93,0	57,0	324,0	274,5	160,5
4	334,5	280,5	48,0	69,0	280,5	162,0	148,5	160,5	147,0
5	156,0	324,0	368,9	42,0	156,0	217,5	85,5	150,0	598,5
6	429,0	205,5	102,0	10,5	124,5	156,0	429,0	322,5	151,5
7	286,5	130,5	166,5	201,0	219,0	291,0	177,0	172,5	130,5
8	249,0	55,5	395,0	246,0	313,5	183,0	160,5	210,0	40,5
9	243,0	61,5	234,0	174,0	115,5	117,0	301,5	112,5	148,5
10	423,0	225,0	132,0	43,5	177,0	159,0	178,5	181,5	96,0
11	234,0	99,0	66,0	102,0	172,5	153,0	228,0	163,5	169,5
12	412,5	46,5	139,5	310,5	225,0	124,5	250,5	84,0	163,5
13	190,5	220,5	121,5	123,0	156,0	66,0	127,5	78,0	82,5
14	228,0	87,0	315,0	279,0	339,0	117,0	207,0	201,0	115,5
15	291,0	76,5	474,0	190,5	232,5	43,5	210,0	144,0	138,0

Tableau 4: Concentration en ADN génomique (ng/ μ l) pour chacun des individus de chacune des 9 accessions traitées au niveau du LRGB

N	TBN	ILT	TKR	IGR	KHL	GHM	TGN	LAH	FEZ
	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}	V _{H2O}
1	79,95	144,3	0	38,1	0	103,8	37,2	27,3	38,1
2	77,25	124,05	7,45	39	24,6	74,1	83,55	87,6	51,15
3	57,9	45,3	4,8	22,35	12,9	2,1	82,2	67,35	33,15
4	56,9	69,15	0	5,7	69,15	33,6	29,55	33,15	29,1
5	31,8	82,2	95,67	0	31,8	50,25	10,65	30	164,55
6	113,7	46,65	15,6	0	22,35	31,8	113,7	81,75	30,45
7	23,65	24,15	34,95	45,3	50,7	72,3	38,1	36,75	24,15
8	59,7	1,65	103,5	58,8	79,05	39,9	33,15	48	0
9	57,9	3,45	55,2	37,2	19,65	20,1	75,45	18,75	29,55
10	111,9	52,5	24,6	0	38,1	32,7	38,55	39,45	13,8
11	55,2	14,7	4,8	15,6	36,75	30,9	53,4	34,05	35,85
12	108,75	0	26,85	78,15	52,5	22,35	60,15	10,2	34,05
13	42,15	51,15	21,45	21,9	31,8	4,8	23,25	8,4	9,75
14	53,4	11,1	79,5	68,7	86,7	20,1	47,1	45,3	19,65
15	72,3	7,95	127,2	42,15	54,75	0	48	28,2	26,4

Tableau 5: Le volume d'eau distillée en μ l à ajouter à chaque échantillon d'ADN pour l'obtention de la concentration de 50 ng/ μ l

Annexe 2

	n	P	A	A_p	H_e	H_o	f
DZ-AAS	15,437	0,875	3,000	3,285	0,395	0,409	-0,034
DZ-BSA	15,875	0,937	3,250	3,400	0,430	0,406	0,057
DZ-BAB	15,562	0,750	2,500	3,000	0,415	0,389	0,062
DZ-BTM	15,687	0,875	3,000	3,285	0,455	0,427	0,063
DZ-SHH	15,500	0,812	2,125	2,384	0,343	0,333	0,028
DZ-LOM	15,250	0,875	3,187	3,500	0,513	0,586	-0,148
DZ-OBC	15,769	0,846	2,384	2,636	0,349	0,333	0,045
DZ-MST	15,461	0,923	3,076	3,250	0,384	0,393	-0,025
DZ-TAO	15,571	0,857	2,928	3,250	0,348	0,468	-0,361
DZ-GOL	15,714	0,928	4,142	4,384	0,621	0,556	0,108
DZ-IGS	15,214	0,928	2,714	2,846	0,378	0,363	0,037
DZ-OST	14,928	0,785	2,714	3,181	0,421	0,445	-0,039
DZ-MGH	13,666	0,600	1,866	2,444	0,265	0,222	0,165
DZ-KAL	12,866	0,800	2,666	3,083	0,297	0,308	-0,038
DZ-KST	15,600	0,666	2,733	3,600	0,337	0,227	0,332
Moyenne	15,207	0,830	2,819	3,168	0,397	0,391	0,014

Tableau 5 : Diversité génétique pour les 15 populations locales de maïs analysées par 16 marqueurs microsatellites.

(n) nombre d'individus génotypés par accession, (P) proportion de loci polymorphiques, (A) nombre d'allèles par locus, (A_p) nombre d'allèles par locus polymorphiques, (H_e) hétérozygotie espérée, (H_o) Hétérozygotie observée et (f) le coefficient de consanguinité intra-accessions.

	n	P	A	A_p	H_e	H_o	F
phi127	229	1	3	3	0,309	0,209	0,323
phi036	139	1	9	9	0,710	0,446	0,373
phi027	231	1	4	4	0,381	0,311	0,183
phi059	224	1	6	6	0,714	0,473	0,338
umc1222	231	1	8	8	0,765	0,458	0,401
umc1403	235	0	1	-	0,000	0,000	0,000
umc1165	233	1	5	5	0,632	0,420	0,335
umc1265	228	1	5	5	0,715	0,543	0,239
bnlg1520	229	1	6	6	0,476	0,414	0,129
umc1329	234	1	3	3	0,294	0,269	0,086
umc1225	210	1	9	9	0,556	0,366	0,341
umc1424	228	1	7	7	0,651	0,451	0,307
umc1545	228	1	6	6	0,736	0,447	0,393
umc1327	229	1	7	7	0,795	0,515	0,352
umc1335	189	1	8	8	0,782	0,518	0,337
umc1963	94	1	4	4	0,627	0,585	0,067
Moyenne	211,93	0,93	5,68	6	0,571	0,402	0,297

Tableau 6: La diversité génétique des 16 loci microsatellites analysés dans les 15 populations locales de maïs.

(n) nombre d'individus génotypés par locus de microsatellite, (P) proportion de loci polymorphiques, (A) nombre d'allèles par locus, (A_p) nombre d'allèles par locus polymorphiques, (H_e) hétérozygotie espérée, (H_o) Hétérozygotie observée et (F) le coefficient globale de consanguinité.

Annexe 3 Positions chromosomique des 18 marqueurs microsatellites utilisés

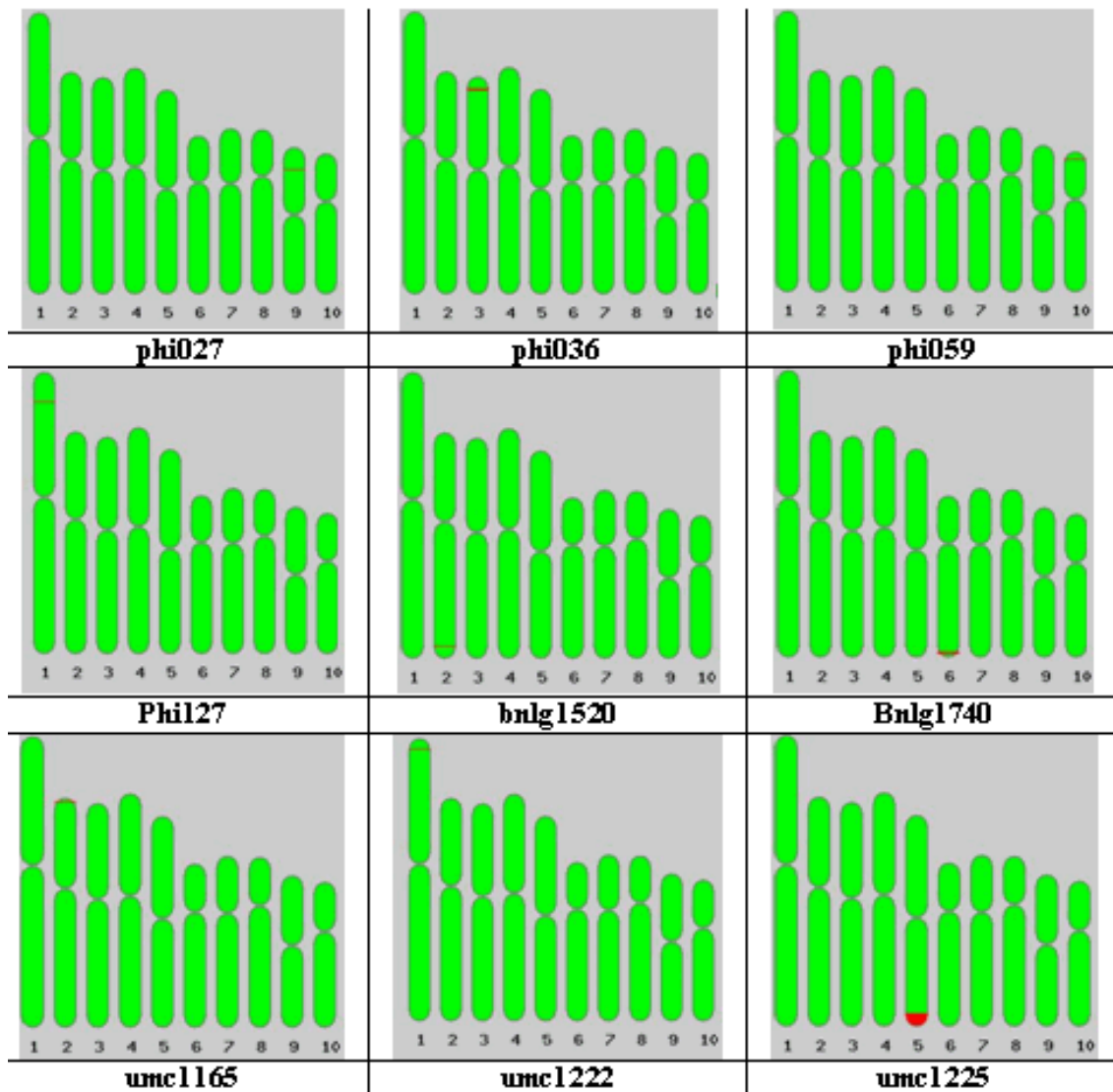


Figure 4: Positions chromosomiques des 18 marqueurs microsatellites.

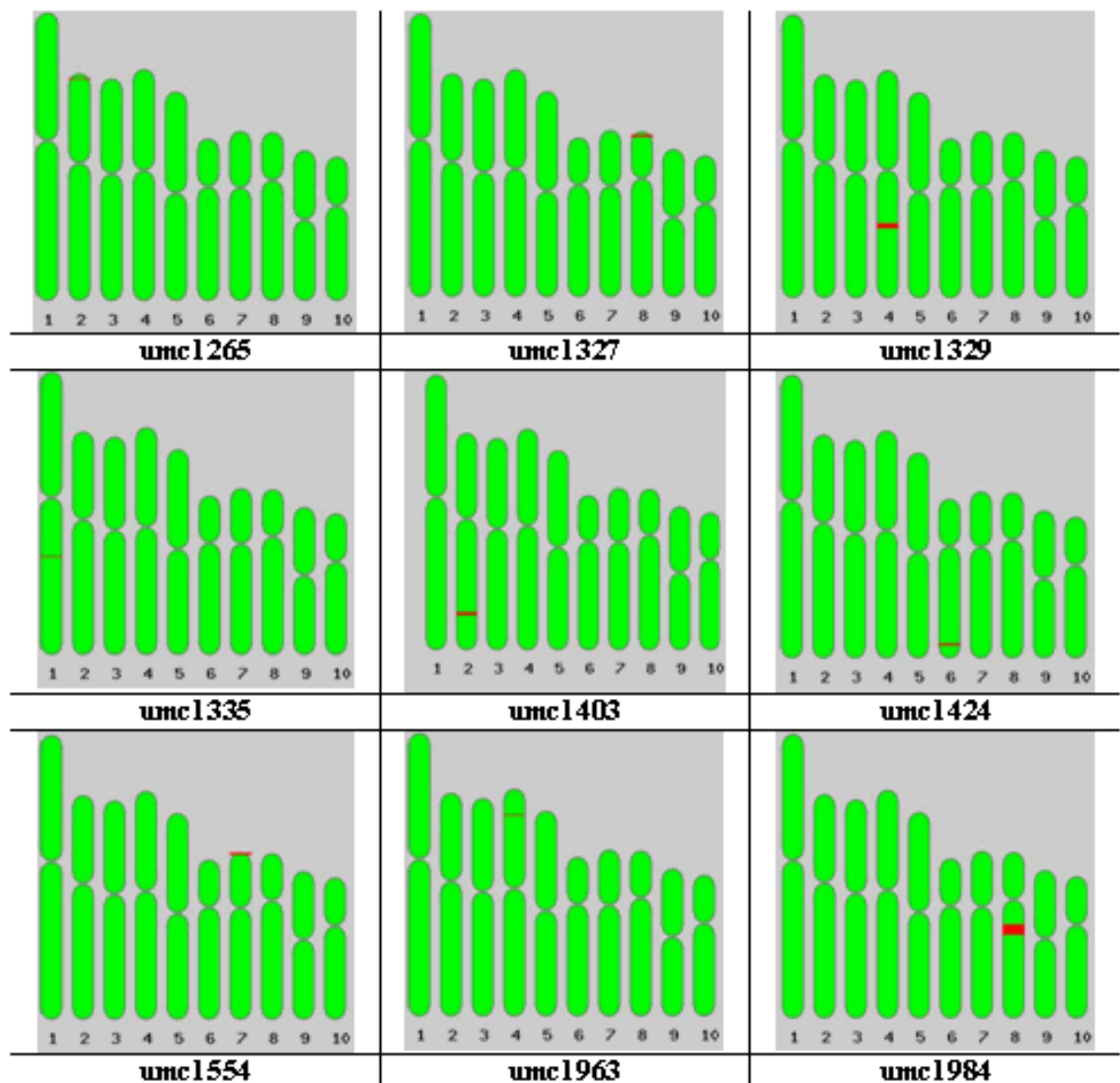


Figure 5: Positions chromosomiques des 18 marqueurs microsatellites (suite).

Annexe 4



Figure 2 : Thermocycleurs utilisés à la MBG

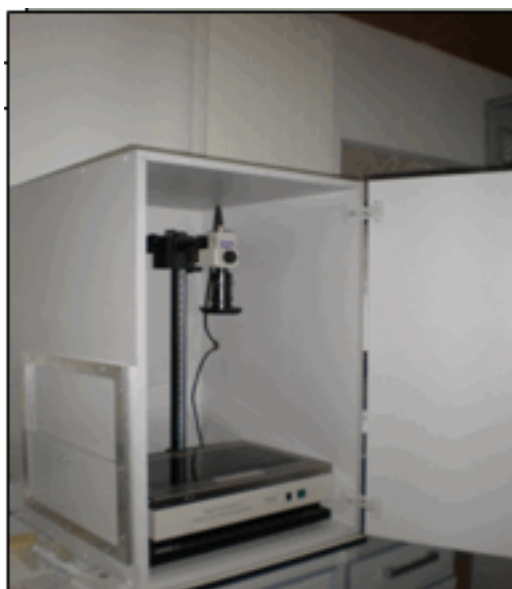


Figure 3 : Dispositif de la chambre noire

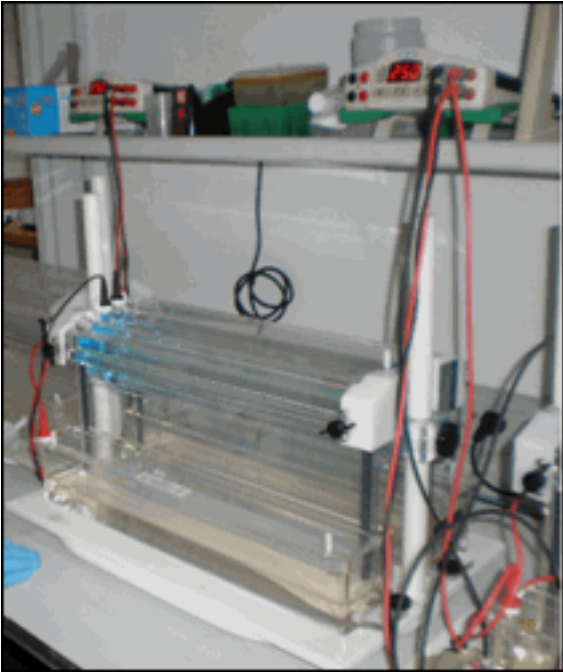


Figure 4 : Cuve électrophorétique utilisée à la MBG

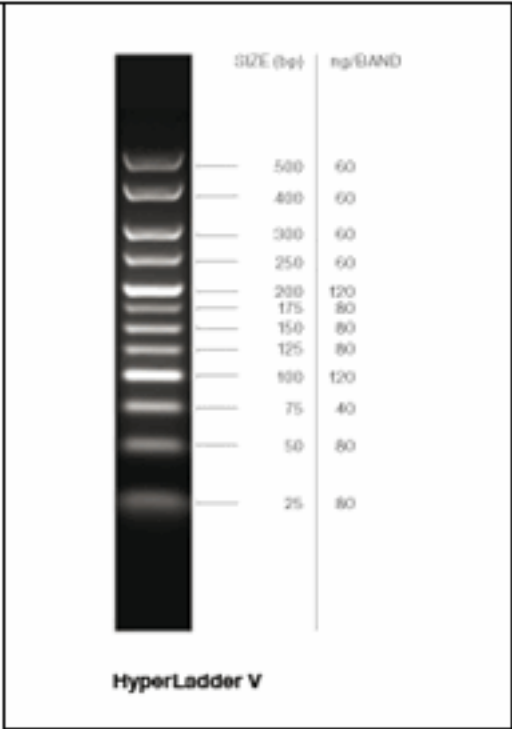


Figure 5 : Marqueur de poids moléculaires



Figure 6 : Spectrophotomètre du LRGB