



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2023-2024

N° D'ORDRE : 117

CANDIDAT

Nom : KOUADIO

Prénom : Kouamé Léonard

THESE DE DOCTORAT

Mention : Agriculture et Foresterie Tropicale

**Spécialité : Génétique et Amélioration
des Plantes**

**Création de lignées de maïs (*Zea mays* L.,
1753) résistantes à la sécheresse par la
technique de la mutation induite aux
rayonnements gamma, à Daloa (Côte
d'Ivoire)**

JURY

Président : M. SORO Dogniméton, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Directeur : M. KONAN N'Guessan Olivier, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Rapporteur : M. AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Examineurs : M. SILUÉ Souleymane, Maître de Conférences, Université Peleforo GON COULIBALY

M. KOUASSI N'Dri Jacob, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Soutenue publiquement
le : 11/12/2024



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2023-2024

N° D'ORDRE : 117

CANDIDAT

Nom : KOUADIO

Prénom : Kouamé Léonard

THESE DE DOCTORAT

Mention : Agriculture et Foresterie Tropicale

**Spécialité : Génétique et Amélioration
des Plantes**

**Création de lignées de maïs (*Zea mays* L.,
1753) résistantes à la sécheresse par la
technique de la mutation induite aux
rayonnements gamma, à Daloa (Côte
d'Ivoire)**

JURY

Président : M. SORO Dogniméton, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Directeur : M. KONAN N'guessan Olivier, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Rapporteur : M. AKAFFOU Doffou Sélastique, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Examineurs : M. SILUÉ Souleymane, Maître de Conférences, Université Peleforo GON COULIBALY

M. KOUASSI N'Dri Jacob, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

Soutenu publiquement
le : 11/12/2024

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	i
DÉDICACE	viii
AVANT-PROPOS.....	ix
REMERCIEMENTS	x
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xiv
LISTE DES TABLEAUX	xvi
LISTE DES FIGURES	xvii
INTRODUCTION.....	1
PREMIÈRE PARTIE : GÉNÉRALITÉS	6
1. GENERALITES SUR LE MAÏS	7
1.1. Origine et distribution du maïs	7
1.2. Position systématique du maïs.....	7
1.3. Description de la plante de maïs.....	8
1.3.1. Appareil végétatif	8
1.3.2. Appareil reproducteur	9
1.4. Écologie du maïs	11
1.5. Physiologie et développement de la plante	11
1.5.1. Phase végétative	12
1.5.2. Phase de reproduction	12
1.5.3. Phase de maturation	12
1.6. Récolte	13
1.7 Activités post-récoltes.....	14
1.8. Ravageurs et parasites du maïs.....	14
1.8.1. Ravageurs	14
1.8.1.1. Mammifères et oiseaux	14
1.8.1.2. Insectes.....	14
1.8.2. Parasites	15
1.8.2.1. Plante parasite.....	15
1.8.2.2. Rhizoctone du maïs.....	15

1.8.2.3. Rouille commune du maïs	15
1.9. Méthodes de lutte contre les ravageurs et maladies	16
1.10. Variétés de maïs en Côte d'Ivoire	16
1.11. Alimentation humaine.....	16
1.12. Alimentation animale.....	18
1.13. Importance thérapeutique.....	18
1.14. Importance industrielle	18
1.15. Importance économique	19
2. CULTURE DU MAÏS ET SÉCHÉRESSE.....	20
2.1. Notion de sécheresse.....	20
2.2. Symptômes de stress hydrique	20
2.3. Mécanismes d'adaptation au déficit hydrique	22
2.3.2.1. Polyphénols	23
2.3.2.2. Sucres solubles	23
2.3.2.3. Proline	23
2.3.2.4. Teneur en chlorophylle	24
2.3.2.6.1. Catalase	24
2.3.2.6.2. Ascorbate peroxydase	25
2.3.3. Réaction physiologique face au stress hydrique.....	25
3. AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE DU MAÏS.....	27
3.1. Notion d'amélioration génétique	27
3.2. Amélioration classique du maïs	27
3.2.1. Sélection massale.....	27
3.2.2. Sélection "épi à la ligne".....	28
3.2.3. Autofécondation	28
3.2.4. Hybridation.....	28
3.2.4.1. Création d'hybrides.....	29
3.2.4.1.1. Hybride simple.....	29
3.2.4.1.2. Hybride trois voies	29
3.2.4.2. Rétrocroisement.....	30
3.2.5. Création de variétés synthétiques	31

3.2.6. Création de variétés ccomposites	32
3.2.7. Sélection généalogique	32
3.2.8. Sélection récurrente	33
3.3. Amélioration par la biotechnologie	33
3.3.1. Haplodiploïdisation.....	33
3.3.2. Transgénèse	34
3.4. Amélioration par mutation induite	35
3.4.1. Définition des mutations	35
3.4.2. Induction de mutations au rayonnement gamma	37
3.4.3. Sélection des mutants après irradiation au rayon gamma	37
3.4.4. Contribution de la mutation induite à la sécurité alimentaire mondiale	39
4. CARACTERISATION DES RESSOURCES PHYTOGENETIQUES	41
4.1. Notion diversité génétique	41
4.2. Étude de diversité	41
4.2.1. Marqueurs morphologiques.....	41
4.2.2. Marqueurs biochimiques.....	42
4.2.3. Marqueurs moléculaires	42
4.2.3.1. Random Amplified Polymorphic DNA ou amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD).....	44
4.2.3.2. Restriction Fragment Length Polymorphisms ou Polymorphisme de la longueur des Fragments de restrictions (RFLP)	45
4.2.3.3. Amplified Fragment Length Polymorphism ou polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP)	46
4.2.3.4. Simple Sequences Repeats ou microsatellites ou séquences simples répétées (SSR).....	47
4.2.3.5. Inter Simple Sequence Repeat ou Séquences Inter-microsatellites (ISSR) ..	48
4.2.3.6. Single-Nucleotide Polymorphism ou polymorphisme nucléotidique unique (SNP).....	49
DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES	51
1. SITE D'ÉTUDE	52

2. CREATION ET CARACTERISATION PHÉNOTYPIQUE DE LIGNÉES MUTANTES APRÈS IRRADIATION AU RAYONNEMENT GAMMA	54
2.1. Matériel	54
2.1.1. Matériel végétal	54
2.1.2. Matériel technique	54
2.2. Méthodes	55
2.2.1. Création des lignées par sélection généalogique	55
2.2.2. Caractérisation phénotypique des lignées développées	57
2.2.2.1. Matériel végétal	57
2.2.2.2. Dispositif expérimental	58
2.2.2.3. Mise en place de la parcelle expérimentale	58
2.2.2.4. Entretien de la parcelle	60
2.2.2.5. Données collectées	61
2.2.2.6. Analyses statistiques	62
3. EVALUATION DU POTENTIEL DE RÉSISTANCE À LA SÉCHERESSE DES LIGNÉES DÉVELOPPÉES	64
3.1. Matériel	64
3.1.1. Matériel végétal	64
3.1.2. Matériel technique	64
3.1.2.1. Matériel technique au champ	64
3.1.2.2. Matériel technique au laboratoire	64
3.2. Méthodes	65
3.2.1. Dispositif expérimental et mise en place de la parcelle	65
3.2.3. Données collectées	67
3.2.3.1. Détermination de la densité et du degré d'ouverture des stomates	67
3.2.3.2.1. Extraction et dosage des pigments chlorophylliens	68
3.2.3.2.2. Extraction et dosage des composés phénoliques	69
3.2.3.2.3. Extraction et dosage des sucres totaux	69
3.2.3.2.4. Extraction et dosage des protéines	70
3.2.3.2.5. Extraction et dosage de la proline	70
3.2.3.2.6. Extraction et dosage des protéines enzymatiques	71

3.2.3.2.6.1. Extraction des protéines enzymatiques	71
3.2.3.2.6.2. Dosage de l'ascorbate peroxydase et de la catalase	71
3.2.3.3. Détermination des paramètres agronomiques	72
3.2.4. Analyses statistiques	72
4. EVALUATION DE LA VARIABILITE GENETIQUE DES LIGNEES POTENTIELLEMENT RESISTANTES A L'AIDE DE MARQUEURS ISSR.....	73
4.1. Matériel	73
4.1.1. Matériel végétal	73
4.1.2. Matériel technique	73
4.2. Méthodes.....	74
4.2.1. Echantillonnage	74
4.2.2. Extraction d'ADN.....	75
4.2.3. Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait	76
4.2.4. Amplification des fragments d'ADN par PCR	77
4.2.4.1. Préparation des solutions d'ADN à amplifier	77
4.2.4.3. Réalisation de la PCR	77
4.2.4.2. Choix des amorces	78
4.2.4.4. Migration des fragments après amplification.....	78
4.2.4.5. Révélation des fragments amplifiés	79
4.2.4.6. Lecture des gels issus de l'électrophorèse.....	79
4.3. Analyse statistique	79
TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION	81
1.1. Résultats	82
1.1.1. Lignées mutantes produites	82
1.1.2. Caractérisation phénotypique des lignées retenues	83
1.1.2.1. Variation des caractères phénologiques	83
1.1.2.2. Variation des paramètres de croissance et de développement.....	84
1.1.2.3. Variation des paramètres de rendement	86
1.1.3. Corrélations entre les caractères étudiés et factorisabilité des données	88
1.1.4. Structuration de la diversité inter-lignées	89
1.1.4.1. Choix et analyse des axes.....	89

1.1.2.4. Contribution des paramètres à la construction des axes.....	90
1.1.2.5. Projection des variables sur le cercle corrélation	91
1.1.2.6. Projection des individus dans le plan factoriel	92
1.1.5.6. Analyse de la distance génétique entre les lignées sur la base des caractères phénotypiques étudiés	93
1.1.5.7. Classification hiérarchique ascendante des lignées	94
1.2. Discussion	95
2. POTENTIEL DE RÉSISTANCE À LA SÉCHÉRESSE DES LIGNÉES DÉVELOPPÉES.....	100
2.1. Résultats	100
2.1.1. Effet du stress hydrique sur la densité et le degré d'ouverture des stomates .	100
2.1.2. Effet du stress hydrique sur les pigments photosynthétiques.....	102
2.1.2. Effet du stress hydrique sur les paramètres biochimiques	105
2.1.3. Variation des teneurs en enzymes	108
2.1.4. Structuration des lignées au moyen des paramètres biochimiques.....	110
2.1.4.1. Choix des axes	110
2.1.4.2. Contribution des caractères à la réalisation des axes	111
2.1.4.3. Projection des variables sur le cercle de corrélation	112
2.1.4.4. Projection des lignées dans le plan factoriel	113
2.1.5. Effet du stress hydrique sur les paramètres agronomiques	114
2.1.6. Structuration des lignées étudiées à travers les paramètres biochimiques et agronomiques	116
2.1.6.1. Choix des axes	116
2.1.6.2. Contribution des caractères à la réalisation des axes	117
2.1.6.3. Projection des lignées sur le cercle de corrélation.....	118
2.1.6.4. Projection des lignées dans le plan factoriel	119
2.2. Discussion	121
3. VARIABILITE GENETIQUE DES LIGNEES POTENTIELLEMENT RESISTANTES A L'AIDE DE MARQUEURS ISSR.....	127
3.1. Résultats	127
3.1.1. Quantité et qualité des extraits d'ADN obtenus	127

3.1.2. Analyse des profils par amorce ISSR	128
3.1.3. Analyse des profils des lignées étudiées	129
3.1.4. Relations génétiques entre les lignées étudiées	130
3.2. Discussion	133
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	136
RÉFÉRENCES.....	139
PUBLICATION SCIENTIFIQUE	176

DÉDICACE

*A mes géniteurs défunts, **KOUAKOU Kouadio** et **KONAN Affoué**, pour la vie et l'éducation reçues*

AVANT-PROPOS

Le présent travail de thèse a été exécuté dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'**Agence Internationale de l'Energie Atomique** (AIEA). L'objectif de ce projet est de créer des variétés de maïs adaptées aux conditions pédoclimatiques des régions Nord de la Côte d'Ivoire par la technique de la mutation induite au rayonnement gamma. Le principal coordonnateur de ce projet est Monsieur **KOUADIO Yatty Justin**, Professeur Titulaire à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ (UJLoG).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été possible grâce à la collaboration de certaines personnes qui de près ou de loin ont bien voulu m'apporter leur aide. Que ces personnes trouvent en ces lignes, l'expression de mes sincères reconnaissances.

Je remercie la première responsable de cette prestigieuse institution, Madame **ADOHI KROU Viviane**, Professeur Titulaire en Physique Moléculaire et Spectroscopie Électronique, Présidente en exercice de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ (UJLoG), pour sa contribution à l'amélioration de la formation des étudiants et au développement de la recherche.

Je témoigne ma profonde gratitude à Monsieur **SORO Dogniméton**, Professeur Titulaire en Agro-Pédologie, Vice-président en exercice chargé de la pédagogie, de la vie universitaire, de la recherche et de l'innovation technique de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, pour sa disponibilité, ses conseils, son implication dans ce travail ainsi que ses remarques pertinentes qui ont permis d'enrichir mes compétences et d'approfondir mes recherches et connaissances pour la réussite de ce travail. Merci d'avoir accepté de juger et d'apporter votre précieuse contribution à l'amélioration de ce travail

Je remercie vivement Monsieur **KONE Issiaka**, Professeur Titulaire en Sociologie Anthropologie des organisations, Vice-Président en exercice chargé de la planification, de la programmation et des relations extérieures de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, pour sa contribution à l'amélioration de la formation des étudiants et au développement de la recherche.

Je remercie Monsieur **KOUADIO Yatty Justin**, Ex-Vice-Président chargé de la planification, de la programmation et des relations extérieures de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, Professeur Titulaire en Physiologie et Biotechnologie végétale et en Agronomie. Coordonnateur du projet AIEA/UJLoG. Qu'il reçoive du fond du cœur ma gratitude pour son apport inestimable de tout genre pour l'aboutissement de ce travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance à l'Ex-Vice-Président chargé de la planification, de la programmation et des relations extérieures de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ, Monsieur **AKAFFOU Doffou Sélastique**, Professeur Titulaire en Génétique et Amélioration des Plantes,

pour ses conseils, ses encouragements, sa contribution à ma formation ainsi qu'à son apport pour l'amélioration de ce document.

Je remercie la Directrice de l'UFR Agroforesterie, Madame **TONESSIA Dolou Charlotte**, Maître de Conférences en Physiologie Végétale et Protection des Végétaux, pour ses conseils et encouragements.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur **AYOLIE Koutoua**, Professeur Titulaire en Physiologie Végétale, Directeur du Laboratoire d'Amélioration de la Production Agricole (LPA) de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ. Je vous remercie pour votre disponibilité, votre implication depuis le début de ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mon respect sans limite au Directeur Scientifique de cette thèse. Monsieur **KONAN N'Guessan Olivier**, Maître de Conférences en Génétique et Amélioration des Plantes à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ qui a accepté de m'encadrer et surtout pour la confiance qu'il a placée en ma modeste personne. Sa rigueur, sa disponibilité, ses multiples et précieux conseils, ainsi que son soutien financier dont je continue de bénéficier m'ont énormément aidé depuis le début de cette aventure. Je suis heureux pour la formation dont je continue de bénéficier de sa part.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Madame **KONAN née COMBO Agnan Marie-Michel** pour son soutien inestimable et ses encouragements depuis le début de ce travail.

Je remercie Monsieur **FOFANA Inza Jésus**, Maître de Conférences à l'Université Peleforo GON COULIBALY - Korhogo, Instructeur de cette thèse de Doctorat. Je vous exprime ma profonde reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail malgré vos nombreuses charges pédagogique, scientifiques et administratives. Vos observations et suggestions ont été les bienvenues car elles ont permis d'améliorer le travail afin de le rendre plus compréhensif.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **KOUASSI N'Dri Jacob**, Maître de Conférences en Agro physiologie à UJLoG et à Monsieur **SILUÉ Souleymane**, Maître de Conférences en Génétique et Amélioration des Espèces et Biotechnologie à l'Université Peleforo GON COULIBALY - Korhogo, pour avoir accepté de juger et d'apporter leurs précieuses contributions à l'amélioration de ce travail.

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur **KOFFI Béné Jean Claude** et à Madame **KOFFI Ahébé Marie Hélène** respectivement Professeur Titulaire et Maîtres de Conférences à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ pour le soutien ainsi que leurs nombreux conseils.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à Madame **YAPO Sopie Edwige Salomé**, Maître de Conférences en Physiologie Végétale à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ pour ses encouragements et ses conseils.

Je suis particulièrement reconnaissant à Monsieur **KOUAKOU Claude-Victorien**, Assistant à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ pour son soutien depuis la première année, ses nombreux conseils et encouragements.

Je tiens vivement à remercier Mesdemoiselles **KANGA Ahou Nadia** et **N'GUESSAN Affoué Sylvie Rachelle** ainsi que Messieurs **KOUADIO Akessé Blaise**, **N'DRI Konan Ella** et **ABE Allépo Innocent**, tous Assistants à l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ pour leur soutien, leurs conseils.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de tous les Enseignants Chercheurs et Chercheurs ainsi qu'au personnel administratif de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ. Je voudrais exprimer mes chaleureux remerciements pour leurs conseils et la formation de qualité qu'ils apportent aux étudiants.

J'adresse mes sincères remerciements aux doctorants **KONE Sié Kissomanbien**, **SORO Chigata Lohona**, **NÉNÉ Bi Francis**, **KOFFI Tahia Jean Yves**, **KOUADIO N'gbé Ange Emmanuella**, **ADOUKO Henriette**, **YAO Bleu Richmond** et **OUSSOU Koffi Mathieu** pour leur aide, disponibilité, conseils, et soutien durant les travaux.

Mes sincères remerciements et mon infinie gratitude s'adressent à ma famille, particulièrement à Monsieur **KOUADIO Kouakou Jean Philippe**, mon grand-frère, pour son soutien inestimable depuis le début de cette aventure.

Je ne saurais oublier Mademoiselle **SAHIRI Grâce Kérène**, ma fiancée, avec qui je partage les joies ainsi que les doutes du quotidien, je suis heureux de t'avoir rencontrée.

Il m'est particulièrement agréable d'exprimer ma sincère gratitude à tous ceux qui m'ont apporté leur soutien et dont j'ai oublié de citer le nom. Je vous prie de bien vouloir accepter mes erreurs, sachez que ce travail n'aurait pas abouti sans votre soutien.

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ACP	: Analyse en Composantes Principales
ADN	: Acide Désoxyribonucléique
AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AIEA	: Agence Internationale de l'Énergie Atomique
ANOVA	: Analyse de variance
APX	: Ascorbate peroxydase
ARN	: Acide Ribonucléique
BET	: Bromure d'éthidium
CAT	: Catalase
CHA	: Classification Hiérarchique Ascendante
Chl	: Chlorophylle
CIMMYT	: Centre International d'Amélioration du Maïs et du blé
CIRAD-GRET	: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement- Groupe de Recherche et d'Échange Technologique
CNRA	: Centre National de Recherche Agronomique
DO	: Densité Optique
EDTA	: Acide Éthylènediaminetétraacétique
FAO	: Fond des Nations Unies pour l'Alimentation
FAOSTAT	: Base de Données Statistique du Fond des Nations Unies pour l'Alimentation
FIRCA	: Fond Interprofessionnel pour la Recherche et le Conseil Agricole
GMCI	: Groupement des producteurs de Côte d'Ivoire
GNIS	: Groupement National Interprofessionnel des Semences et plants
IMCI	: Interprofession Maïs de Côte d'Ivoire
IPGRI	: International Plant Genetic Resources Institute
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat

KMO	: Kaiser-Meyer-Olkin
MINAGRI	: Ministère de l'Agriculture et des Ressources Animales
OGM	: Organismes Génétiquement Modifiés
PCoA	: Analyse en Coordonnées Principales
PCR	: Réaction de Polymérisation en Chaîne
PND-CI	: Plan National de Développement de la Côte d'Ivoire
PVP	: Polivinyllirrolidone
QTL	: Quantitative Trait Locus
RADP	: Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphisms
RONGEAD	: Réseau européen des organisations non gouvernementales sur les questions agro-alimentaires et le développement
ROS	: Espèces Réactives de l'Oxygène
SAB	: Sérum Albumine Bovin
SNP	: Single-Nucleotide Polymorphism
SSR	: Simple Sequences Repeats
TBE	: Tris, Borate, EDTA
UV	: Ultraviolet

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Quelques variétés vulgarisées par le CNRA	17
Tableau II: Composition chimique des principales parties des grains de maïs	18
Tableau III: Liste des lignées sélectionnées pour la caractérisation.....	57
Tableau IV: Matériel technique au laboratoire	73
Tableau V: Caractéristiques des amorces utilisées	78
Tableau VI: Valeurs moyennes des paramètres phénologiques chez les lignées étudiées.....	83
Tableau VII: Valeurs moyennes des paramètres de croissance et de développement chez les ...	85
Tableau VIII: Variation des paramètres de rendement chez les lignées étudiées	87
Tableau IX: Matrice de corrélation entre les variables mesurées	89
Tableau X: Indice de KMO pour la matrice et test de Bartlett	89
Tableau XI: Valeurs propres et pourcentage de variance des axes de l'ACP	90
Tableau XII: Contribution des paramètres à la réalisation des axes	91
Tableau XIII: Variation des paramètres stomatiques en fonction du stress appliqué	100
Tableau XIV: Variation des pigments photosynthétiques.....	103
Tableau XV: Variation de la teneur en composés biochimiques	106
Tableau XVI: Variation des activités enzymatiques	109
Tableau XVII: Valeurs propres et pourcentage de variance des axes de l'analyse des composantes	111
Tableau XVIII: Contribution des paramètres à la réalisation des axes.....	112
Tableau XIX: Variation des paramètres agronomiques en fonction du stress appliqué	115
Tableau XX: Valeurs propres et pourcentage de variation exprimée par les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales	117
Tableau XXI: Contribution des paramètres à la réalisation des axes	118
Tableau XXII : Concentrations et pureté des extraits d'ADN des lignées de maïs étudiées	127
Tableau XXIII: Nombre de loci et taux de polymorphisme mis en évidence par les amorces ISSR.....	129
Tableau XXIV: Différents types de bandes générées par les lignées	130
Tableau XXV: Matrice des distances génétiques entre les lignées de maïs étudiées	130

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Plante de maïs.....	9
Figure 2: Appareils reproducteurs du maïs	10
Figure 3: Différentes formes du grain de maïs.....	10
Figure 4: Différentes couleurs des grains de maïs	11
Figure 5: Différentes phases du développement du maïs	13
Figure 6: Conséquence du déficit hydrique pendant la floraison.....	22
Figure 7: Différents types d'hybrides	29
Figure 8: Schéma de l'introduction d'un caractère intéressant dans une lignée par	31
Figure 9 : Mutagènes courants utilisés dans l'induction de mutations de plantes	36
Figure 10: Schéma d'amélioration par la mutation induite	38
Figure 11: Principe général de l'utilisation des marqueurs moléculaires pour la comparaison....	44
Figure 12: Amplification aléatoire de l'ADN avec des amorces de séquence arbitraire.....	45
Figure 13: Principe de la technique RFLP	46
Figure 14: Principe de la technique d'AFLP	47
Figure 15: Fragment schématique d'ADN présentant des microsatellites (SSR) et des régions inter.....	49
Figure 16 : Illustration d'une substitution ponctuelle, « snip » ou SNP entre les séquences de l'ADN 1 et 2.....	50
Figure 17: Carte présentant la ville de Daloa.....	53
Figure 18: Quelques étapes de l'autopollinisation	56
Figure 19: Schéma du dispositif expérimental.....	59
Figure 20: Différentes étapes de la mise en place de la parcelle.....	60
Figure 21: Plantes des lignées de maïs évaluées	64
Figure 22: Schéma du dispositif expérimental.....	66
Figure 23: Quelques étapes du prélèvement d'empreintes stomatiques.....	68
Figure 24: Quelques étapes de l'échantillonnage.....	74
Figure 25: Quelques étapes de l'extraction de l'ADN.....	76
Figure 26: Utilisation du NanoDrop pour le dosage de l'ADN génomique	77
Figure 27: Quelques épis des lignées de la génération M5 sélectionnées	82
Figure 28: Cercle de corrélation des variables aux facteurs	92

Figure 29: Projection des lignées dans le plan factoriel	93
Figure 30: Dendrogramme issu de la classification hiérarchique ascendante des lignées.....	94
Figure 31: Vue microscopique des stomates.....	102
Figure 32: Cercle de corrélation des variables biochimiques	113
Figure 33: Distribution des lignées dans le plan factoriel	114
Figure 34: Cercle de corrélation des variables	119
Figure 35: Distribution des lignées dans le plan factoriel en fonction des paramètres physiologiques, biochimiques et agronomiques	120
Figure 36: Quelques profils électrophorétiques obtenus chez les lignées étudiées.....	128
Figure 37: Distribution des lignées de maïs dans le plan 1-2 de la PCoA.....	131
Figure 38: Arbre non enraciné des lignées résistantes étudiées	132

INTRODUCTION

Le maïs (*Zea mays* L.) est une plante monoïque à $2n=20$, de la famille des Poaceae. C'est la céréale la plus cultivée avec la plus grande production au monde (Prashanthi *et al.*, 2024). Le maïs occupe la première place (41 %) en termes de surface cultivée devant le blé (40 %) et le riz (9 %) (Dedi *et al.*, 2017 ; Maël, 2019). Il représente également la céréale la plus énergétique en raison de ses atouts nutritifs, notamment sa richesse en amidon, en protéines et en minéraux (Charcosset & Gallais, 2009 ; Cruz *et al.*, 2019 ; Garutti *et al.*, 2022). Sa culture est pratiquée dans des conditions très variées, allant du climat tropical au climat tempéré (Burny, 2011 ; Mbiadjeu-Lawou *et al.*, 2021) et répond à des besoins de plus en plus croissants pour la vente et la consommation (Boone *et al.*, 2008 ; Manirakiza, 2020).

Sa production mondiale était évaluée à plus de 1,16 milliard de tonnes en 2022 pour une superficie totale d'environ 203 millions d'hectares, avec les Etats-Unis, la Chine, le Brésil et l'Argentine comme principaux pays producteurs (FAOSTAT, 2023). En Afrique, avec plus de 92 millions de tonnes produites en 2022 (FAOSTAT, 2023), le maïs occupe, une place de choix dans la l'alimentation des populations. En effet, il constitue la base du régime alimentaire des populations rurales et urbaines (Boone *et al.*, 2008 ; Kato *et al.*, 2023). Le rôle central du maïs comme aliment de base en Afrique est comparable à celui du riz ou du blé en Asie. La position dominante de la culture de cette céréale en Afrique est liée à son rôle stratégique à la fois comme produit de rente et produit de forte consommation (Mugisho *et al.*, 2024). Il est non seulement utilisé dans l'alimentation humaine et animale (volailles, porcins, bovins), mais, sert aussi de matière première dans certaines industries telles que les brasseries, les savonneries et les huileries (Boone *et al.*, 2008 ; Assohoun-Djeni *et al.*, 2016 ; Dabija *et al.*, 2021).

En Côte d'Ivoire, le maïs constitue avec le riz, les céréales les plus produites et les plus consommées (Robet *et al.*, 2020). Longtemps considéré comme une simple culture de subsistance, le maïs représente aujourd'hui une importante spéculation agricole qui conduit à une intensification de sa culture. En 2022, pour une superficie totale emblavée estimée à 575 milles hectares, sa production nationale annuelle était estimée à 1,19 million de tonnes (FAOSTAT, 2023). La culture du maïs est pratiquée dans toutes les zones agro-écologiques du pays principalement dans les régions du nord où elle contribue à hauteur de 68 % dans la production nationale (MINAGRI, 2010 ; Essy *et al.*, 2022 ; Timité *et al.*, 2022).

En effet, le maïs est bien représenté dans les régions du Poro, du Hambol, du Folon, du Kabadougou, du Worodougou et du Beré (Laopé *et al.*, 2020). Dans les zones forestières, la culture du maïs prend progressivement une place considérable en tant que culture vivrière complétant la culture du riz, du manioc, de l'igname et du taro (Ahouyao *et al.*, 2022).

Selon les estimations de production de la FAO et comparées à la situation des pays voisins, la filière ivoirienne de maïs semble connaître une croissance relativement lente (FAO, 2023). Afin de redynamiser le secteur, l'amélioration de la production du maïs représente un axe majeur des programmes de recherche et a été inscrit comme priorité d'action (priorité 4) dans le PND CI 2012-2015 (PND-CI, 2012). Ainsi, plusieurs variétés de maïs ont été développées et proposées aux différents producteurs (RONGEAD-Chigata, 2014). De plus, les acteurs de la filière ont mis en place en 2013, l'Interprofession Maïs de Côte d'Ivoire (IMCI). Par ailleurs, dans le souci d'accompagner efficacement la filière, le Fond Interprofessionnel pour la Recherche et le Conseil Agricole (FIRCA) a signé avec le Groupement des producteurs de Côte d'Ivoire (GMCI), une convention afin d'apporter un appui au renforcement des capacités de cette organisation (FIRCA, 2013).

Toutefois, malgré ces efforts pour booster la production du maïs, sa culture reste confrontée à de nombreux problèmes. Il s'agit, entre autres, de la perte de la fertilité des sols, de la dégénérescence génétique des variétés, de la forte utilisation de variétés locales à faible rendement et des effets du changement climatique telle que la sécheresse (N'Da *et al.*, 2013 ; Alexandridis *et al.*, 2023). Cette dernière est responsable de la baisse considérable de la production (Bamba *et al.*, 2019), en agissant sur tous les stades de développement de la plante (Kabongo, 2018 ; Siené *et al.*, 2020). De même, des récentes études ont montré que depuis 1980, la production des cultures majeures (Maïs, Riz, Shorgo et Blé) a chuté à cause du réchauffement planétaire (Lobell & *al.*, 2011 ; Abdikafi *et al.*, 2024). Selon les prévisions, face aux tendances actuelles du réchauffement de la planète, la production du maïs pourrait chuter de 20 % d'ici l'an 2050 en Afrique Subsaharienne (Schlenker & Lobell, 2010 ; Fosu-Mensah *et al.*, 2019). Face à cette situation, plusieurs solutions ont été préconisées par la recherche parmi lesquelles figurent en bonne place l'amélioration variétale (Goalbaye *et al.*, 2019). En effet, le développement de variétés améliorées à haut rendement qui répondent aux contraintes environnementales reste une des alternatives.

La sélection constitue donc, un outil extrêmement puissant pour l'obtention de ces variétés performantes en terme de rendement et de résistance à divers stress de l'environnement (Temesgen & Temesgen, 2024). L'amélioration par voie classique constitue la première technique et consiste à créer de nouvelles variétés par le croisement entre deux parents à caractères intéressants et complémentaires (Moussa *et al.*, 2019 ; Siené *et al.*, 2020 ; Shahiba *et al.*, 2023). Cette méthode, largement utilisée dans les programmes de sélection, a permis au Centre national de recherche agronomique (Deffan *et al.*, 2015), de développer des variétés de maïs très productives et résistantes à certaines maladies dont la pourriture de la tige et de l'épi ainsi que la rouille (Bodoharisoa *et al.*, 2009 ; Kouakou *et al.*, 2014). Cependant, la faible diversité génétique de maïs constitue souvent une limite à l'utilisation de l'amélioration classique. Par ailleurs, l'ingénierie génétique a permis via la transgénèse d'introduire directement dans le matériel génétique du maïs des gènes exotiques provenant d'espèces apparentées ou pas sans passer par la voie sexuée (Bodoharisoa *et al.*, 2009 ; Sharma *et al.*, 2022). Cette technique a alors permis selon Rozas *et al.* (2022), le développement d'Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Il s'agit en particulier, des espèces résistantes aux insectes tel que le maïs Bt (Yang *et al.*, 2023) ainsi que le maïs WAXY, très riche en nutriments, doux et digeste (Bodoharisoa *et al.*, 2009 ; Lu *et al.*, 2024). Cependant, cette technologie, bien qu'impressionnante, fait l'objet de nombreuses controverses et révèle une méfiance par rapport à ses impacts sur la santé humaine et sur l'environnement (Raman 2017 ; Tsatsakis *et al.*, 2017 ; Brookes & Barfoot, 2020). En plus de ces deux techniques, il existe la méthode d'amélioration par mutagenèse utilisant l'irradiation aux rayonnements (x, gamma, etc.) (AIEA, 2020). Les irradiations par les rayonnements provoquent des modifications (mutations) du matériel génétique de l'espèce qui peuvent se transmettre aux descendants de l'espèce irradiée pour donner des lignées mutantes et utiles dans le processus de création variétale (Ma *et al.*, 2021). Ainsi, la technique de mutation induite par irradiation Gamma a fait ses preuves dans l'obtention de nouvelles variétés de cultures à travers le monde (Asaré *et al.*, 2017 ; Obra *et al.*, 2019 ; Riviello-Flores *et al.*, 2022 ; Yasmin & Arulbalachandran, 2022 ; Thenuja *et al.*, 2024).

En Côte d'Ivoire, les rayons gamma ont été largement utilisés comme agent mutagène dans le cadre de programmes d'amélioration génétique végétale, grâce au support technique de l'Agence Internationale d'Energie Atomique sur les principales cultures du pays. Il s'agit du riz pluvial (Sangaré *et al.*, 1984 ; Kouassi *et al.*, 2005), du niébé (Kouassi *et al.*, 2016 ; Kouassi & Zoro, 2018), du manioc (Kouassi *et al.*, 2012 ; Coulibaly *et al.*, 2014), et du cocotier (Koffi *et al.*, 2013), etc.

En effet, l'action des rayonnements sur les organismes vivants est capable de provoquer des modifications dans leur génome. Ces modifications peuvent engendrer de nouveaux gènes capables de donner des espèces végétales adaptées à diverses contraintes liées à leurs cultures (Katiyar *et al.*, 2022). Ainsi, les mutations provoquées par l'exposition des semences de maïs au rayonnement gamma peuvent conduire à l'obtention de mutants pouvant tolérer de faibles quantités d'eau dans le sol (Saibari *et al.*, 2023).

C'est dans ce contexte que se situe cette étude qui a pour objectif général de contribuer à l'amélioration de la production du maïs en Côte d'Ivoire, par la création de lignées résistantes à la sécheresse au moyen de la technique de mutation induite au rayonnement gamma. Plus spécifiquement, il s'agissait de :

- 1) caractériser phénotypiquement de nouvelles lignées mutantes après leur création par irradiation au rayonnement gamma ;
- 2) évaluer le potentiel de résistance à la sécheresse des lignées développées ;
- 3) évaluer la variabilité génétique des lignées potentiellement résistantes à l'aide de marqueurs ISSR.

Outre l'introduction et la conclusion suivie de quelques perspectives, le présent mémoire comprend trois grandes parties. La première partie, présente les généralités, à savoir une synthèse bibliographique sur le maïs et les outils de l'amélioration génétique des plantes. La deuxième partie, est consacrée au matériel et aux méthodes. Elle expose le matériel utilisé et décrit toute la méthodologie appliquée afin d'atteindre les objectifs fixés. Les résultats générés seront présentés et discutés dans la troisième partie. Enfin, une liste des références scientifiques consultées est présentée.

PREMIÈRE PARTIE : **GÉNÉRALITÉS**

1. GENERALITES SUR LE MAÏS

1.1. Origine et distribution du maïs

Le maïs est cultivé en Amérique centrale depuis des milliers d'années (CIRAD-GRET, 2002). Certains chercheurs ont affirmé que cette céréale aurait été domestiquée à partir de la téosinte locale dans la région centrale du Mexique. L'évolution de la téosinte l'ancêtre du maïs, s'est faite de manière naturelle par des mutations génétiques, mais aussi, par l'homme grâce à la sélection massale pendant sa période de domestication (Piperno & Dolores, 2011). À partir du V^{ème} millénaire avant notre ère, la culture du maïs s'est étendue rapidement sur toutes les régions tropicales et équatoriales de l'Amérique Centrale et de l'Amérique du Sud, avec des variétés toujours présentes aujourd'hui. Les variétés de maïs se sont ensuite répandues en Amérique du Nord (Etats-Unis et au Canada) où elles se sont adaptées aux zones tempérées (GNIS, 2015). Dès le XVI^e siècle, les espagnols et les portugais, à travers le commerce triangulaire et la traite négrière, ont introduit le maïs en Afrique (Torrejón *et al.*, 2013).

En Côte d'Ivoire, les foyers de production les plus importants sont formés initialement dans le Nord, en pays sénoufo et au Nord-Ouest, en pays malinké. Resté très longtemps secondaire en zone de forêt, le maïs n'y a connu son essor qu'à partir des années 50, avec l'arrivée d'hommes originaires du Nord. Depuis 1995, des champs de culture pure du maïs couvrent de vastes étendues à travers tout le pays (Sangaré *et al.*, 2009).

1.2. Position systématique du maïs

Le maïs est une monocotylédone, appartenant à la famille des Poaceae. Il appartient à la tribu des Maydaeo Tripsaceae et est subdivisée en huit genres. Cinq parmi ces genres (*Coix*, *Schleracine*, *Polytoca*, *Chionacme* et *Trilobachne*) sont originaires de l'Asie et les trois autres (*Euchlaena*, *Tripsacum* et *Zea*), de l'Amérique (Le Conte, 1950). Le genre *Zea* reste le plus exploité. Il renferme aussi bien des espèces annuelles que pérennes, des formes sauvages telles que les téosintes et une forme cultivée, *Zea mays*. Selon l'une des classifications faites par Iltis et Doebley (Marchand *et al.*, 1997), l'espèce *Zea mays* regroupe quatre sous-espèces que sont : *Zea mays* subsp. *huehuetenangensis*, *Zea mays* subsp. *parviglumis*, *Zea mays* subsp. *Mexicana* et *Zea mays* subsp. *mays* (L.).

La nomenclature de *Zea mays* L., proposée par Cronquist (1981) se présente comme suit :

Règne.....: Végétal
Embranchement.....: Spermaphytes
Sous-embranchement.....: Angiosperme
Classe.....: Monocotylédones
Ordre.....: Poales
Famille.....: Poaceae
Genre.....: *Zea*
Espèce.....: *Zea mays* L. 1753

1.3. Description de la plante de maïs

1.3.1. Appareil végétatif

L'appareil végétatif de la plante (Figure 1), comporte des feuilles, une tige et des racines. Les dimensions des feuilles varient de 10 cm de large à 1 m de long. Elles sont lancéolées avec des nervures linéaires et parallèles ainsi qu'une nervure principale évidente (Hoopen & Maïga, 2012). Les feuilles sont alternes et varient de 8 à 40 en fonction de la variété et présentent chacune une gaine embrassante possédant des poils courts au niveau de la bordure supérieure (Zoma, 2010). La tige est longue de 1,5 à 3,5 m et présente un diamètre variant de 5 à 6 cm. Elle contient de la lignine avec une moelle sucrée, comportant des nœuds et des entre-nœuds. Le système racinaire du maïs permet de puiser l'eau et les nutriments dans les couches superficielles du sol. Il est de type fasciculé, se forme à la base de la tige sur les nœuds enterrés et les nœuds aériens, dans une zone où les entre-nœuds sont très courts (Karl, 2012). Il y a trois catégories de racines. D'abord, la racine principale, formée à partir de la radicule avec de courtes ramifications. Ensuite, les racines secondaires, situées dans la partie basale des entre-nœuds de la jeune tige. Enfin, les racines d'ancrage, situées au-dessus du sol et qui apparaissent tardivement au niveau des premiers nœuds. Les racines ont pour principale fonction, l'amélioration de la fixation ainsi que la stabilité de la plante (Zoma, 2010).

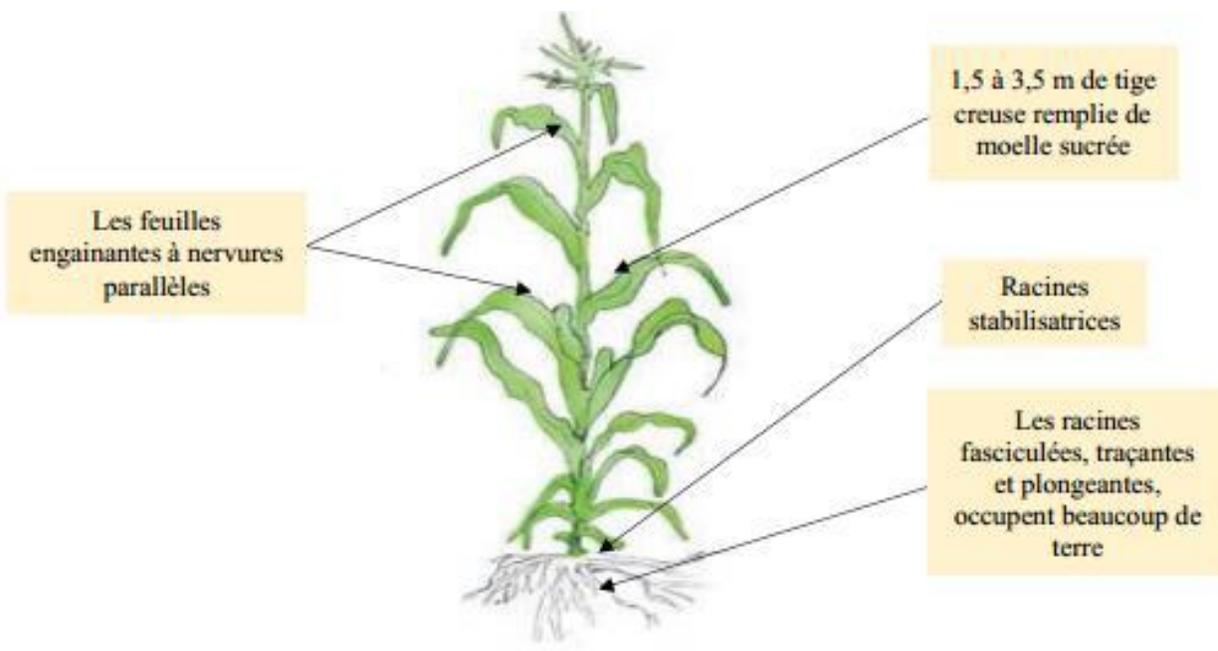


Figure 1: Plante de maïs (Hoopen & Maïga, 2012)

1.3.2. Appareil reproducteur

Le maïs est une plante monoïque avec un gradient physiologique sexuel (Figure 2). Le caractère sexuel mâle domine au sommet, sous une forme de panicule regroupant les fleurs mâles. L'appareil reproducteur femelle se situe au tiers médian de la plante sous la forme d'un épi, constituant les fleurs femelles (Zoma, 2010). L'inflorescence mâle est plus ou moins ramifiée. Sur chaque racème s'insèrent par paire des épillets biflores. Chaque paire contient un épillet avec un pédicelle âgé et un épillet sans pétiole. Chaque épillet est constitué de deux fleurs enroulées dans une paire de cinq glumes ciliées. Chacune de ces deux fleurs possède trois étamines (Karl, 2012). Chaque pied présente une à quatre inflorescences femelles, disposées à l'aisselle des feuilles. Chaque épi contient une rafle sur laquelle les grains sont disposés en lignes verticales (Hoopen & Maïga, 2012). L'épi est enveloppé par des spathes avec de longs stigmates au sommet appelés soies (Karl, 2012). En général la viabilité du pollen est de 10 à 30 minutes, mais, selon Bomblies *et al.* (2005), elle peut être plus longue lorsque les conditions sont favorables. Le fruit du maïs est un caryopse, c'est-à-dire que le péricarpe soudé à la graine (Karl, 2012). Les grains sont disposés selon les variétés, sur 8 à 20 rangés verticales le long de la rafle. Les grains de maïs existent sous plusieurs formes (Figure 3) que sont : ratatiné, indenté, plat, arrondi, pointu et très pointu, avec des couleurs variées : blanc, jaune, roux, doré, violet, noir (Figure 4). Ils peuvent avoir souvent des aspects lisses ou ridés.

Un épi peut porter un nombre de grains variant de 300 à 1 000 avec une masse moyenne à maturité de 150 à 330 g. Chaque grain comprend un embryon et un cotylédon formant le germe, d'un albumen et d'une enveloppe rigide qui constitue une barrière à l'entrée des champignons et des bactéries appelée péricarpe (Hoopen & Maïga, 2012).

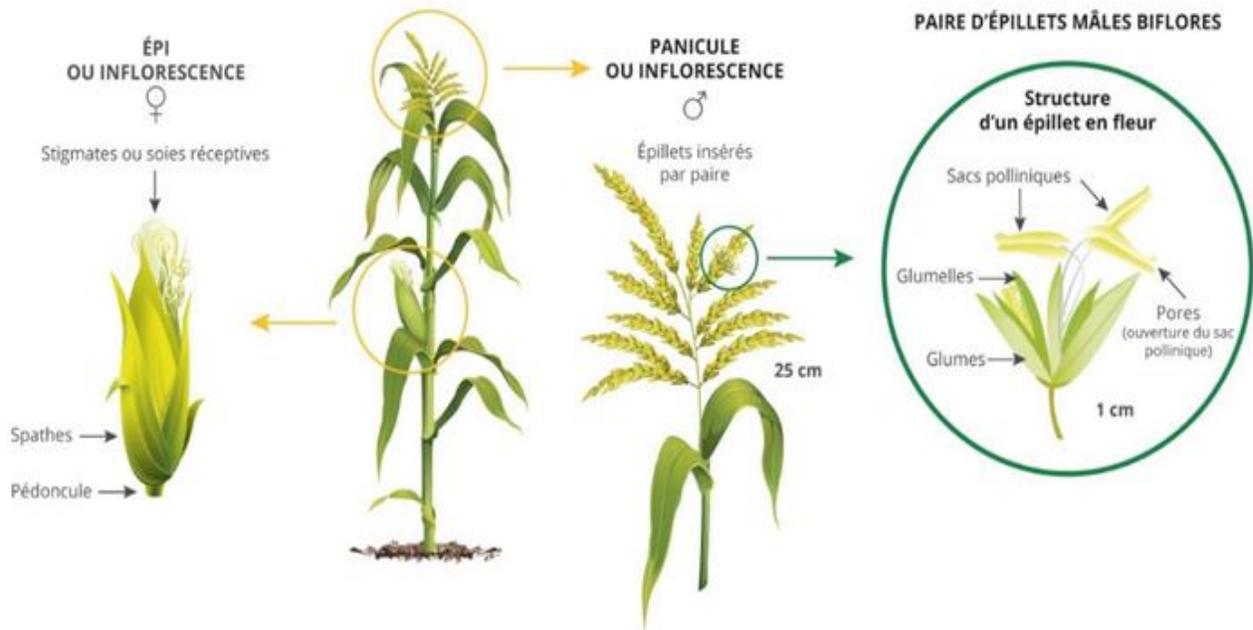


Figure 2: Appareils reproducteurs du maïs (SEMAE, 2024)

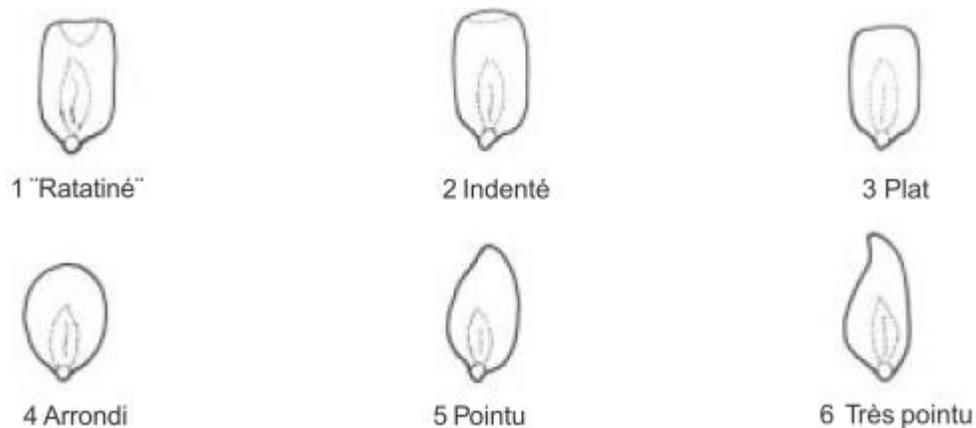


Figure 3: Différentes formes du grain de maïs (IPGRI, 1991)



Figure 4: Différentes couleurs des grains de maïs (Noel, 2021)

1.4. Écologie du maïs

Le maïs, plante héliophile se cultive en savane comme en zone forestière. Le climat de savane avec une quantité annuelle de pluie allant de 800 à 1200 mm est le plus approprié à sa culture (Hoopen & Maïga, 2012). Dans les basses et moyennes altitudes, les températures optimales pour le développement harmonieux du maïs tropical sont comprises entre 30 et 34 ° C. Elle est d'environ 21 ° C pour les hautes altitudes. La température minimale pour une bonne germination des grains de maïs est de 10 à 12 ° C. En dessous de 5 ° C, la germination devient impossible.

Les types de sols favorables à la culture du maïs sont des sols profonds, bien structurés, riches en éléments nutritifs, limons sablonneux, régulièrement approvisionnés en eau avec un pH compris entre 5,5 et 7 (CNRA, 2006).

1.5. Physiologie et développement de la plante

En raison de sa provenance tropicale, le maïs possède un métabolisme spécifique qui lui permet d'avoir un rendement plus élevé pour la réalisation de la photosynthèse, c'est-à-dire la transformation de l'énergie lumineuse en matière organique (GNIS, 2015).

Grâce à une photosynthèse particulière, le maïs a un cycle de développement relativement court, ce qui lui permet d'exploiter au mieux la lumière et la chaleur. La croissance des feuilles de la plante est remarquable car elle produit rapidement une grande quantité de matière sèche. Le processus de développement du maïs se divise en trois étapes bien distinctes (Figure 5), caractérisées par la création d'un ou de plusieurs organes essentiels de la plante (GNIS, 2015). Ce sont : les phases végétatives, de reproduction et de maturation.

1.5.1. Phase végétative

Le grain gonfle sous l'influence de l'humidité. Deux à trois jours après le semis, apparaît la radicule, puis la tigelle trois à quatre jours après semis. La levée dure en général huit à dix jours après le semis (Hoopen & Maïga, 2012). Les réserves de l'albumen sont utilisées pour la germination du grain. Pour ce faire, la coléoptile perce le sol et émet les premières feuilles. À ce moment, la tige et les feuilles s'étendent afin que le jeune plant devienne progressivement autotrophe. Les racines du maïs se développent également dans les couches superficielles du sol afin de capter l'eau et les nutriments essentiels à la croissance de la plante (GNIS, 2015). La phase de croissance varie selon les variétés, la température ambiante et l'état d'humidité du sol. Trente à trente-cinq jours après semis, le maïs atteint une hauteur 10 à 15 cm et 50 à 60 cm de hauteur après soixante jours (Hoopen & Maïga, 2012).

1.5.2. Phase de reproduction

La phase de reproduction consiste à la formation et au développement des organes reproducteurs (GNIS, 2015). Dès la fin de la phase végétative, l'inflorescence mâle apparaît 45 à 95 jours selon les variétés après semis. Quelques jours après, les inflorescences femelles sont prêtes pour la fécondation, soit cinq à huit jours après l'apparition des inflorescences mâles (Hoopen & Maïga, 2012).

1.5.3. Phase de maturation

Le nombre définitif de grains sur la plante est déterminé dès la réalisation de la fécondation. Les grains se développent quelques semaines après en accumulent des réserves d'amidon. Au cours de ce développement, les grains passent par trois stades successifs : stade laiteux, stade pâteux et stade sec.

Au stade laiteux, le grain a atteint sa forme et ses dimensions définitives. Il peut être de couleur variée (jaune pâle, violette, rouge ou blanche) et son contenu est laiteux. Ensuite au stade pâteux,

le grain s'écrase facilement, son taux d'humidité est compris entre 50 et 60 % (GNIS, 2015). La teneur en matière sèche de la plante est alors voisine de 25 % ; les feuilles et les spathes sont vertes. Ces différentes phases dépendent des variétés. Enfin au stade sec, c'est la maturation complète. Le grain a une humidité inférieure à 35 %, la teneur en matière sèche de la plante est supérieure à 45 %. La plante est entièrement sèche (Hoopen & Maïga, 2012).

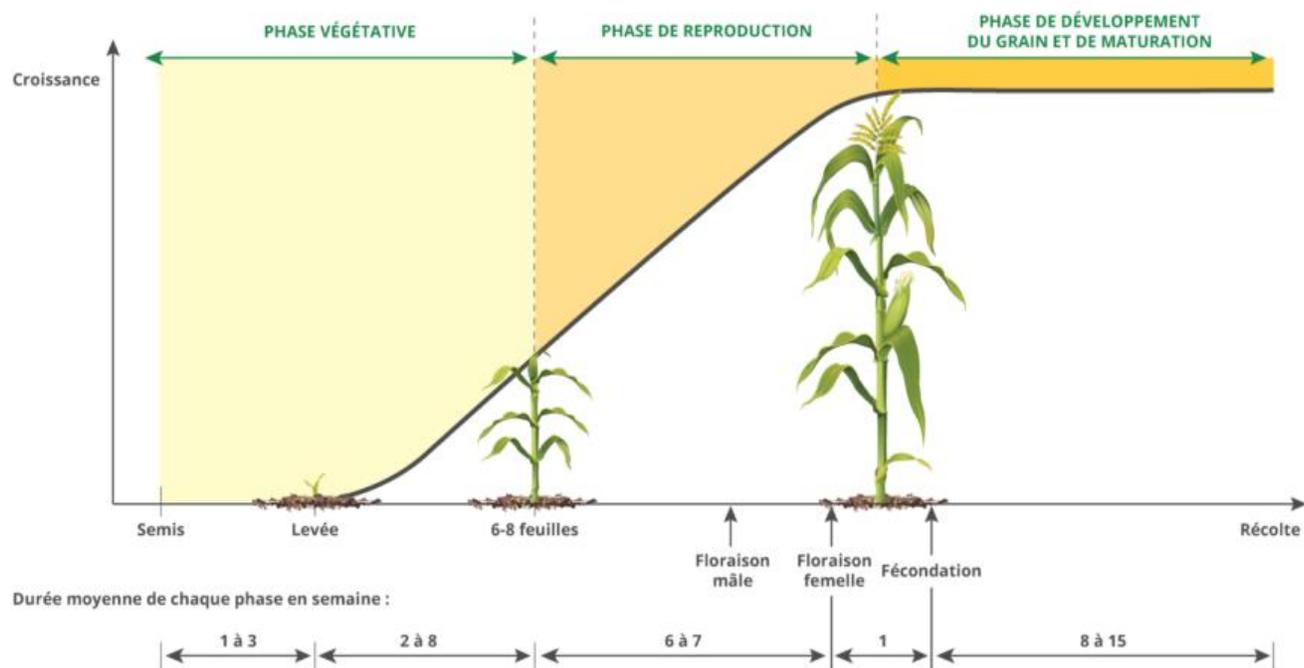


Figure 5: Différentes phases du développement du maïs (SEMAE, 2024)

1.6. Récolte

Selon le goût et son utilisation, les épis de maïs peuvent être récoltés frais ou secs. Les épis des variétés à cycle court sont récoltés frais 60 à 75 jours après semis et 76 à 110 jours après semis pour les variétés à cycle long. Ils sont récoltés secs lorsque les spathes sont sèches et que les grains résistent aux rayures de l'ongle (CNRA, 2006). Plusieurs modes de stockages existent, mais, le plus répandu est la conservation en greniers. Les épis se conserve le plus souvent en spathes, mais aussi, en gerbes qui consiste à attacher les épis les uns aux autres de façon à pouvoir les accrocher à un arbre (Akanvou *et al.*, 2006).

1.7 Activités post-récoltes

Il est essentiel de retirer les spathes afin de favoriser un séchage plus efficace. Les épis de maïs sont séchés sur des surfaces ouvertes, cimentées, sur des claies, sur des bâches en plastique, sur des séchoirs ou dans des cribs. Il est aussi recommandé d'orienter les cribs de manière perpendiculaire à la direction du vent afin de garantir une dessiccation optimale (CNRA, 2006). Il est nécessaire de sécher les grains jusqu'à ce qu'ils atteignent une humidité de 12 %. Le traitement des récoltes séchées avec de l'Actélic à 2 % DP (pyrimiphos-methyl) de 300 à 500 g pour 100 kg de grains permet de prévenir les charançons. Le stockage s'effectue dans un endroit ventilé. On peut enfouir les résidus de récolte dans le sol, les utiliser comme mulch ou les convertir en fumier ou compost (Hoopen & Maïga, 2012).

1.8. Ravageurs et parasites du maïs

1.8.1. Ravageurs

1.8.1.1. Mammifères et oiseaux

Les cultures de maïs sont principalement attaquées par les oiseaux juste après semis, puis par les mammifères au cours de la croissance et de la maturation des fruits. Les oiseaux consomment les grains semés et les grains matures sur les épis, tandis que les mammifères consomment les jeunes pousses et les fruits en maturation (Micaelo *et al.*, 2023). Il est difficile de protéger les cultures contre ces attaques mécaniques. Les deux investissements majeurs à effectuer (garde et clôture) sont peu rentables pour les petites surfaces et seuls les grands producteurs ont les ressources nécessaires pour les mettre en place (Osipova *et al.*, 2018).

1.8.1.2. Insectes

La productivité du maïs n'est pas significativement affectée par les attaques d'insectes, car les rotations de cultures limitent généralement le développement des populations d'insectes nuisibles. Les principaux insectes qui s'attaquent aux pieds de maïs sont le foreur rose africain (*Sesamia calamistis* H.), le foreur africain du maïs (*Busseola fusca* F.), l'altise du maïs (*Chaetocnema pulicaria* M.), le carabe du maïs (*Stenolophus lecontei* C.) et les termites. Ils attaquent la plante au niveau du collet et provoquent des dessèchements (Kakou, 2011). Le principal insecte qui s'attaque au stockage de maïs est le charançon, notamment l'espèce *Sitophilus zeamais* M. Les producteurs utilisent principalement l'enfumage des greniers traditionnels pour lutter contre les insectes. Il est plutôt performant pour conserver le maïs pendant une période de stockage inférieure à 6 mois (N'da

et al., 2022). Ces dernières années, le ravageur le plus préoccupant est la chenille légionnaire d'automne, *Spodoptera frugiperda* S., qui a été signalée pour la première fois en Afrique en 2016. Cette chenille représente une menace sérieuse pour les cultures de maïs, car elle peut causer des dommages entraînant une réduction du rendement de 15 à 73 % (Makgoba *et al.*, 2021).

1.8.2. Parasites

1.8.2.1. Plante parasite

En Côte d'Ivoire, la Striga (*Striga hermonthica* B) peut constituer un problème majeur, mais ses conséquences peuvent être facilement réduites en choisissant des semences résistantes et en effectuant des rotations de cultures (Kostandini *et al.*, 2015).

1.8.2.2. Rhizoctone du maïs

Le rhizoctone du maïs est causé par un champignon *Rhizoctonia solani* K. (forme sexuée de *Thanatephorus cucumeris* D.). Les pertes de rendement dues à la pathologie sont directement liées à l'intensité de la maladie et à la présence ou non de vers dans la parcelle. Elles peuvent, dans les cas les plus graves, entraîner la perte de 30 % de la production. Le rhizoctone appréciant les conditions d'humidité forte, un meilleur drainage de la parcelle peut être un facteur limitant au développement de ce pathogène. Dans les parcelles où la présence de *R. solani* est avérée, il convient d'adapter les rotations en y intégrant des plantes non-hôtes du champignon (Arvalis, 2012).

1.8.2.3. Rouille commune du maïs

Le champignon biotrophe (*Puccinia sorghi* K.) est le pathogène responsable de la rouille commune du maïs. Cependant, bien que son nom puisse laisser entendre, ce pathogène ne s'attaque pas au sorgho, mais se trouve uniquement sur le maïs, les téosintes et les *Tripsacum* comme plantes hôtes. Les pertes de productivité sont directement associées à la nécrosations de la surface des feuilles par la rouille. Elles peuvent être significatives, de l'ordre de 10 à 15 % en cas d'attaques précoces et de forte pression. L'élimination des résidus permet d'éviter l'amorçage du cycle sexué de la rouille. Le travail du sol n'est pas une solution majeure pour lutter contre la maladie. L'élimination des repousses de maïs ainsi que des plantes hôtes empêche *P. sorghi* de se maintenir de manière asexuée dans les parcelles et limite l'inoculum en début de culture. Actuellement, la lutte contre les champignons se limite à la production de semences résistantes et le moyen le plus efficace pour lutter contre la rouille demeure le choix de variétés (Arvalis, 2012).

1.9. Méthodes de lutte contre les ravageurs et maladies

Un ensemble de techniques, de traitements chimiques et de pratiques culturales ont permis un contrôle satisfaisant des maladies du maïs. Cependant, comme l'avance Ristanovic (2001), le recours aux ressources génétiques constitue une méthode plus rentable et moins nuisible pour l'environnement. Cette idée est soutenue par Kostandini *et al.* (2015). Selon ce dernier les dégâts économiques connaissent une baisse significative avec l'utilisation de variétés résistantes. Les variétés résistantes sont alors la voie de recherche privilégiée. Elles réagissent soit en combattant, soit en atténuant ou encore en surmontant les atteintes de l'agent pathogène grâce à différents mécanismes comme la pilosité, la rugosité, la tunique cireuse de ta tige et la sécrétion de substances chimiques.

1.10. Variétés de maïs en Côte d'Ivoire

En Côte d'Ivoire, différentes variétés traditionnelles et améliorées sont utilisées pour la production (Tableau I). La plupart du matériel amélioré est issu du CNRA.

Par ailleurs, le maïs est utilisé aussi bien en alimentation humaine et animale qu'aux niveaux thérapeutique et industriel

1.11. Alimentation humaine

Le maïs est cultivé pour ses grains, riches en amidon (environ 63 %), qui constituent l'aliment de base de plusieurs populations (FAO, 1995). Il possède selon Jiménez *et al.* (2015), une valeur énergétique semblable à celle des légumineuses sèches. Dans le passé, il a constitué l'aliment essentiel de toutes les civilisations précolombiennes. En Afrique subsaharienne et en Amérique latine, sa consommation demeure très élevée dans les pays en développement. Cette céréale est une composante essentielle du régime alimentaire des habitants des zones rurales en Côte d'Ivoire, car elle est utilisée dans différentes recettes. Le maïs éclaté (pop-corn) est régulièrement consommé en grignotage. Les épis frais braisés ou bouillis sont le plus souvent consommés en dehors des principaux repas, en guise de friandises (Hongbete *et al.*, 2017). En outre, le maïs, qui est transformé en farine, est cuisiné sous forme de bouillies, de galettes cuites ou encore sous une forme plus compacte appelée "Kabatoh" en malinké. On le déguste également sous forme de couscous. Le tableau II expose certaines caractéristiques chimiques des grains de maïs.

Tableau I: Quelques variétés vulgarisées par le CNRA (CNRA, 2006 ; Irié, 2022)

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

Tableau II: Composition chimique des principales parties des grains de maïs (Irié, 2022)

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

1.12. Alimentation animale

La plante entière peut servir au bétail en tant que fourrage frais ou sec ou en tant qu'ensilage. Le maïs est une plante d'embouche, ce qui permet de nourrir plus rapidement les bovins et d'augmenter la production de lait des vaches. Globalement, les deux tiers de la production de maïs sont destinés à l'alimentation animale, tandis que 27 % sont destinés à l'alimentation humaine, principalement à travers les produits de la maïserie (Olaf *et al.*, 2022).

1.13. Importance thérapeutique

Le maïs offre une protection à l'organisme en neutralisant les radicaux libres qui causent des dommages cellulaires et/ou le cancer. Il peut être utilisé pour apaiser la douleur et a des propriétés analgésiques (Owoyele *et al.*, 1990). Selon Alhaji et Saganuwan (2010), la pharmacopée traditionnelle inclut différents styles d'inflorescence femelle (soies) en raison de leurs propriétés cholagogues, diurétiques et antilithiasiques. Ils sont aussi employés afin d'améliorer la tension artérielle, le bon fonctionnement du foie et la circulation biliaire. La soie de maïs est principalement riche en potassium, un diurétique puissant. Selon Lans (2006), les racines et les feuilles de maïs sont utilisées pour soigner les maladies d'estomac.

1.14. Importance industrielle

Le maïs présente de nombreux avantages dans le domaine de l'agroalimentaire (Kenzy & Wahaj, 2015). Les produits de la semoulerie sont utilisés dans certains produits alimentaires tels que les céréales à petit déjeuner et la brasserie. L'extrait de germes de maïs est employé dans les domaines de l'alimentation humaine, pharmaceutique et cosmétique. Le maïs est distillé pour produire des boissons alcooliques tels que le gin, la bière, le whisky de maïs (au moins 80 % de maïs) et le bourbon (de 51 à 79 %).

1.15. Importance économique

La culture du maïs en Côte d'Ivoire est cruciale non seulement pour la sécurité alimentaire, mais aussi pour le développement économique, la création d'emplois et la diversification des revenus des agriculteurs. Elle joue un rôle clé dans la stabilité économique et sociale du pays (RONGEAD-Chigata, 2014). En effet, la vente de maïs constitue une source de revenus significative pour de nombreux agriculteurs. Cela leur permet de subvenir à leurs besoins et d'améliorer leur qualité de vie. En outre, la culture du maïs génère également de nombreux emplois, non seulement pour les agriculteurs, mais aussi pour les travailleurs saisonniers et les acteurs de la chaîne de valeur tels que ceux impliqués dans le transport, la transformation et la vente (Siené *et al.*, 2020). Par ailleurs, bien qu'il ne soit pas la principale culture d'exportation, le maïs est exporté vers d'autres pays voisins, ce qui contribue aux recettes d'exportation de la Côte d'Ivoire (N'da *et al.*, 2016).

2. CULTURE DU MAÏS ET SÉCHÉRESSE

2.1. Culture du maïs

La culture du maïs en Côte d'Ivoire est pratiquée dans toutes zones agro-écologiques du pays et est essentielle pour la sécurité alimentaire, le développement économique et la création d'emplois. Elle représente une part importante de l'agriculture ivoirienne et nécessite des efforts continus pour surmonter les défis auxquels elle est confrontée. Par ailleurs, sa capacité à s'adapter à divers environnements et à fournir des rendements élevés en fait une culture clé dans de nombreuses régions du monde (Siené *et al.*, 2020).

2.1. Notion de sécheresse

Tardieu (1996), définit la sécheresse comme étant une période prolongée sans précipitation qui entraîne la réduction de la teneur en eau du sol et, ainsi, provoquer le déficit hydrique chez la plante. Cette sécheresse peut également être définie, soit, en termes de statut de l'eau externe aux alentours de la plante (sol, air), ou soit en terme de statut de l'eau interne dans les tissus. Ceci signifie qu'il y a une balance négative entre l'offre ou la disponibilité en eau et la demande de la plante. La majorité des agriculteurs dans les tropiques produit du maïs dans des conditions pluviales et sont vulnérables à la sécheresse. Bien que la sécheresse à toute étape de la croissance et du développement des cultures affecte la production, le plus grand impact se produit autour de la floraison (Sah *et al.*, 2020).

2.2. Symptômes de stress hydrique

Dans le cas de stress hydrique ou thermique sévères, le délai entre l'émission du grain de pollen et l'émergence des soies (intervalle de floraison) augmente. Cette désynchronisation entraîne une faible quantité de grain de pollen viable au moment où les soies sont réceptives, provoquant une fécondation réduite (Verbraeken *et al.*, 2021). Selon la période de stress, l'épi peut présenter une bonne fécondation à la base et faible au sommet, ou une répartition dispersée des grains (Figure 6). Tardieu (2006), mentionne que le statut hydrique de la plante passe progressivement par trois principales phases, selon le développement du stress hydrique. Au cours de la phase initiale, la transpiration et l'assimilation se déroulent comme si la plante disposait de l'eau à volonté. Cette phase se poursuit jusqu'au moment où le niveau d'absorption racinaire ne peut plus satisfaire la demande climatique que subit le feuillage. La réserve utile du sol est alors épuisée à 50 %. Après ce seuil, la plante entre dans la seconde phase, au cours de laquelle la transpiration et l'assimilation

sont réduites relativement au potentiel hydrique. La plante réagit de façon dynamique au cours de cette phase, pour rétablir l'équilibre entre la demande climatique et l'offre du sol, faisant intervenir des mécanismes qui lui sont propres dont le développement du système racinaire, la régulation stomatique et/ou l'ajustement osmotique.

Quand le déficit hydrique devient plus intense, alors la plante entre dans la troisième et dernière phase au cours de laquelle les stomates se ferment complètement, annulant toutes activités photosynthétiques. Toutes les pertes hydriques de la plante se font alors à travers les voies non stomatiques (cuticule). Il n'y a plus de gain de matière sèche, la respiration consomme les hydrates de carbone stockés et la plante passe au stade de survie. La période de survie dépend du rythme de la transpiration résiduelle et de la tolérance à la dessiccation des tissus vivants restants. Selon Kabongo (2018), la croissance s'arrête avant qu'aucun abaissement notable ne soit perceptible dans le contenu relatif en eau. Le premier effet du déficit hydrique est de réduire la vitesse de croissance des cellules de la tige. Le déficit hydrique induit le dépôt de cire sur le limbe et la gaine de certaines variétés de céréales. Ce dépôt est d'autant plus marqué que l'environnement est plus sec. L'inflorescence des céréales est relativement protégée de l'évaporation par des surfaces protectrices comme une cuticule épaisse qui fait que le statut hydrique des inflorescences est meilleur que celui des feuilles (Shepherd & Griffiths, 2006). Le déficit hydrique provoque la réduction du nombre de grain par épi, du nombre d'épis par plant, du poids moyen du grain, de l'indice de récolte et du rendement en grain (Chenafi *et al.*, 2006). Sous stress hydrique, la matière sèche augmente progressivement, mais elle reste sous le seuil de 50 %, comparativement à l'évolution de la matière sèche d'une plante non stressée. Cette réduction est assez conséquente pour affecter significativement le rendement en grain (Bouzerzour & Benmahammed, 2009).

Le déficit hydrique affecte significativement les composantes du rendement. Le rapport poids des racines/poids des tiges augmente chez les plantes exposées au déficit hydrique, à cause de la croissance racinaire au détriment de la partie aérienne (Benmahammed *et al.*, 2008). Parmi les solutés, accumulés sous stress hydrique, on note une augmentation des sucres solubles, des acides aminés comme la proline (Hussain, 2006).

Au plan physiologique, le stress hydrique, comme tout stress abiotique entraîne la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) tels que le superoxide (O_2^-) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) chez les plantes. Les ROS, hautement réactives et toxiques, causent des dommages aux

protéines, lipides, glucides et à l'ADN. Cela engendre un stress dit oxydatif ou stress oxydant. Le stress oxydant peut causer des dégâts souvent irréversibles pour la cellule (Sachdev *et al.*, 2021).



Figure 6: Conséquence du déficit hydrique pendant la floraison (Kabongo *et al.*, 2016)

2.3. Mécanismes d'adaptation au déficit hydrique

Pour faire face au déficit hydrique, les plantes développent des stratégies adaptatives qui varient selon l'espèce et des conditions du milieu qui peuvent être l'esquive, l'évitement et la tolérance (Khan *et al.*, 2018). La résistance d'un végétal à une contrainte hydrique peut se définir sur le plan physiologique par sa capacité à réaliser un développement harmonieux et du point de vue agronomique, par une production plus élevée que celle des plantes sensibles (Madhava *et al.*, 2006). De façon chronologique, le mécanisme de résistance débute par l'activation du ou des gènes de résistance, suivi de la synthèse de molécules impliquées dans des réactions physiologiques et des modifications morphologiques pour une adaptation à la sécheresse (Paes *et al.*, 2022).

2.3.1. Activation des gènes de résistance

Face au manque d'eau, la plante perçoit un stimulus qui engendre l'émission de signaux. Ceux-ci sont transmis à l'intérieur de la cellule, déclenchant l'activation de gènes codant des enzymes du métabolisme secondaire pour synthétiser diverses molécules impliquées dans le processus d'adaptation au stress hydrique (Amina, 2021).

2.3.2. Molécules impliquées dans la limitation des pertes d'eau

2.3.2.1. Polyphénols

Les polyphénols, également connus sous le nom de « composés phénoliques » (Hennebelle *et al.*, 2004) ou polyhydroxyphénols, sont des produits chimiques organiques naturels. Ils peuvent également être synthétisés. Ce sont des métabolites secondaires fabriqués à partir de certains composés du métabolisme primaire tels que les sucres et les acides aminés. Selon Boizot & Charpentier (2006), ces composés phénoliques sont naturellement impliqués dans de nombreux processus physiologiques de la plante (croissance cellulaire, rhizogenèse, germination des graines et maturation des fruits). Selon Tsao (2010) se sont aussi de puissants antioxydants qui participent aux réactions de défense de la plante face à différents stress biotiques (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotiques (lumière, rayonnements UV, température, carences, stress hydrique, etc.).

2.3.2.2. Sucres solubles

Les sucres solubles aident la plante faire face au stress. Lors d'un déficit hydrique, ils s'accumulent dans les tissus des plantes, notamment chez les feuilles. Cette accumulation de sucres solubles est une stratégie d'adaptation à la sécheresse, qui permet à la plante de maintenir la turgescence de ses cellules (Chaib *et al.*, 2015). Certains auteurs ont mis en évidence, au cours de leurs travaux, l'accumulation de sucres solubles chez les plantes confrontées à un déficit hydrique (Déjardin *et al.*, 1999). Ainsi, Berka & Aïd, (2009) ont montré des teneurs élevées en sucres solubles dans les feuilles des plantes sous stress face à une réduction de la teneur relative en eau du sol.

2.3.2.3. Proline

La proline est un acide aminé qui fait partie des nombreux composés accumulés par les plantes en réponse à un stress. Son accumulation est l'une des manifestations les plus remarquables en condition de stress hydrique ou salin (Spormann *et al.*, 2023). Cette accumulation limite les effets de ces stress en réalisant l'ajustement du potentiel osmotique dans le cytoplasme et le maintien de l'amélioration de la stabilité des membranes cellulaires (Alem & Amri, 2005). Selon Achour *et al.* (2015), la proline est un excellent bio-détecteur de stress car son accumulation dans les feuilles, les tiges et les racines est considérée comme une des réponses induites les plus répandues en cas de stress. Outre son rôle osmotique, la proline permet aussi l'enroulement des feuilles, qui constitue un mécanisme de réduction de la transpiration chez les plantes céréalières. Elle joue également plusieurs rôles dans le métabolisme de la cellule, dans la protection membranaire, dans la synthèse

des enzymes et favorise aussi la reprise des plantes après réhydratation (Dos Santos *et al.*, 2022). La capacité de son accumulation est souvent mise en évidence par plusieurs sélectionneurs et physiologistes pour la sélection de génotypes résistants au déficit hydrique sur le blé dur (Quagliata *et al.*, 2023). Par ailleurs, il semble que l'accumulation de proline est un paramètre transmissible génétiquement (Szabados & Savoure, 2010).

2.3.2.4. Teneur en chlorophylle

Les pigments chlorophylliens sont à la base de l'activité photosynthétique et toute augmentation de production chez les plantes est due à une meilleure efficacité photosynthétique (Aissa *et al.*, 2014). On distingue plusieurs formes de chlorophylles (a, b, c, d et f) qui n'ont pas la même structure chimique. Les plus courantes sont les chlorophylles a et b.

Le rapport entre les pigments chlorophylliens a et b est considéré comme un bon marqueur de la tolérance des plantes au stress hydrique (Nana *et al.*, 2009). Lorsque les plantes sont soumises à un déficit en eau, on observe généralement une diminution de leur teneur en chlorophylle, comme cela a été démontré chez le blé dur (Bousba *et al.*, 2009). La baisse de la teneur totale en chlorophylle (Chl a+b) observée chez les plantes soumises à un stress hydrique s'explique principalement par deux phénomènes liés. D'une part, la fermeture des stomates entraîne une diminution de l'absorption du CO₂ nécessaire à la photosynthèse. Cette carence en CO₂ conduit à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules. D'autre part, ces ROS en excès provoquent des dommages oxydatifs, notamment la dégradation des molécules de chlorophylle (Bouchemal *et al.*, 2018).

2.3.2.5. Protéines

La synthèse de protéines de défense fait partie des stratégies que les plantes ont développées pour lutter contre leurs ennemis naturels et contre les stress environnementaux (Iqbal *et al.*, 2021). Ainsi, ces protéines jouent un rôle dans la réaction de la plante face au stress ; d'où l'intérêt de nombreux chercheurs pour l'isolement et l'étude de ces molécules dans les travaux de résistance au stress (Lopes *et al.*, 2023).

2.3.2.6.1. Catalase

La catalase (CAT) est une enzyme antioxydante. Cette enzyme est considérée comme la source majeure de protection contre le stress oxydatif (Ankita *et al.*, 2019). Elle a la plus grande capacité de piéger et décomposer rapidement le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Cecerska-Heryc *et al.*,

2022). L'activité de la catalase est augmentée lorsque le niveau du stress oxydatif est élevé (Ighodaro & Akinloye, 2018).

2.3.2.6.2. Ascorbate peroxydase

L'ascorbate peroxydase (APX) est une autre enzyme antioxydante chez les plantes. Elle permet de lutter contre le stress oxydatif en réduisant le H_2O_2 en H_2O . Dans les chloroplastes, l'APX joue un rôle important dans les voies de signalisation du H_2O_2 (Gupta *et al.*, 2023).

2.3.3. Réaction physiologique face au stress hydrique

La réaction physiologique de la plante vis-à-vis du stress hydrique se manifeste à travers la mise en œuvre d'une stratégie de tolérance du stress. Les mécanismes intervenant dans cette tolérance permettent de diminuer la perte en eau et de maintenir un état de turgescence cellulaire favorable au développement foliaire (Sorrells *et al.*, 2000 ; Azzi & Khouai, 2020). Cette réduction des pertes en eau s'opère par la fermeture stomatique, ce qui engendre une diminution de la transpiration et une réduction de la photosynthèse (Araus *et al.*, 2003).

Par ailleurs, la réponse physiologique au stress hydrique se réalise aussi par un ajustement osmotique (Dos Santos *et al.*, 2022). Cet ajustement osmotique constitue le processus majeur permettant à la cellule de maintenir sa turgescence sous contrainte hydrique (Argentel-Martínez *et al.*, 2019). Elle est réalisée grâce à une accumulation des solutés conduisant à un maintien du potentiel de turgescence. Les principaux composés impliqués dans la régulation osmotique sont entre autres des acides organiques, des acides aminés tel que la proline, des sucres totaux et des composés inorganiques (Sharma *et al.*, 2019).

2.3.4. Modifications morphologiques pour limiter les pertes d'eau

Lorsque les plantes sont soumises à un stress dû à la sécheresse, elles réagissent d'abord par des modifications de leur forme extérieure qui sont consécutives aux activités génétiques et physiologiques (Yang *et al.*, 2021). L'effet le plus marquant de la perte d'eau est que la plante pousse lentement. Chez l'ensemble des espèces végétales, y compris celles réputées être les plus tolérantes au manque d'eau comme la luzerne, la fétuque ou le sorgho, un stress hydrique entraîne une réduction immédiate de la croissance des organes aériens tels que les feuilles, les tiges, les entre-nœuds et les ramifications (El-Ramady *et al.*, 2020). Selon la stratégie adaptative propre à chaque espèce ou génotype, les plantes développent alors des modifications morphologiques dans le but de :

- augmenter leur capacité d'absorption d'eau
- diminuer leurs pertes en eau par transpiration
- optimiser la répartition des ressources entre les différents organes, limitant ainsi la compétition pour les assimilés (Mouffok & Belhamra, 2020).

Des études ont montré que les plantes soumises à un stress abiotique peuvent s'adapter à des facteurs environnementaux grâce à la plasticité phénotypique (Dos Santos *et al.*, 2023).

3. AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE DU MAÏS

3.1. Notion d'amélioration génétique

L'amélioration génétique est le processus par lequel l'Homme modifie une espèce végétale donnée pour répondre à un objectif spécifique qui peut être la résistance à un parasite ou à un stress ou l'augmentation du rendement, etc... (Salgotra & Chauhan, 2023). L'amélioration génétique consiste donc à créer de nouvelles variétés à partir de variétés existantes (Temesgen & Temesgen, 2024). Chez le maïs, les programmes de sélection visent l'augmentation du rendement, l'amélioration de la qualité du grain, l'élévation de la résistance aux maladies et aux ravageurs ainsi que la tolérance aux facteurs d'environnement hostiles comme l'acidité et la sécheresse (Dossa *et al.*, 2023). Il existe plusieurs méthodes d'amélioration dont les plus courantes sont : l'amélioration classique, l'amélioration par transgénèse et l'amélioration par mutation induite (mutagénèse).

3.2. Amélioration classique du maïs

L'amélioration classique est la stratégie la plus utilisée pour l'amélioration de la plupart des espèces végétales cultivées (Shahiba *et al.*, 2023). Dans le cas du maïs, les méthodes d'amélioration classique les plus utilisées sont : la sélection massale, la sélection "épi à la ligne", l'autofécondation et l'hybridation, la sélection généalogique et la sélection récurrente.

3.2.1. Sélection massale

La sélection massale est la plus ancienne des méthodes de sélection utilisées en amélioration des plantes. Elle consiste à choisir, au sein d'une population, des individus présentant les caractéristiques phénotypiques les plus intéressantes. Les semences des plantes retenues sont mélangées et utilisées pour le cycle suivant. Le processus est répétitif. C'est une méthode efficace pour des caractères fortement héréditaires (Singh *et al.*, 2024). Cette ancienne méthode est souvent appliquée par les agriculteurs eux-mêmes. C'est ainsi que les cultures de maïs dans différentes régions, notamment en Amérique du Nord, ont été établies à partir d'individus choisis dans les champs en fonction de critères tels que l'aspect des plantes, les caractéristiques du grain, le délai de maturité, etc. Ces choix ont entraîné la différenciation de formes locales adaptées à des conditions particulières (Mangani *et al.*, 2023).

3.2.2. Sélection “épi à la ligne”

La sélection “épi à la ligne” consiste à choisir les plantes désirées et de semer les graines récoltées de celles-ci en ligne. Les graines des meilleures lignées sont choisies pour le cycle suivant. Aucun croisement et aucune autofécondation n’interviennent (Turner, 2010).

3.2.3. Autofécondation

L’autofécondation est une technique réalisée par l’isolement des inflorescences suivi de leur autopolinisation (Sukumaran *et al.*, 2020). Le choix des pieds à autoféconder est basé sur des critères individuels tels la vigueur, l’aspect général et l’état sanitaire des plantes. L’autofécondation de plantes sélectionnées pendant plusieurs générations (5 ou 6) aboutit à des lignées les plus homozygotes possibles qu’on appelle lignées consanguines, lignées stables ou lignées pures (Yan *et al.*, 2017).

Une lignée se définit comme un ensemble d’individus homozygotes pour les gènes considérés, identiques entre eux et identiques à leur parent (Begna, 2021). L’autofécondation chez le maïs favorise l’apparition d’homozygotes récessifs et de caractères semi-létaux : déficience chlorophyllienne, stérilité pollinique, malformations diverses. La sélection porte sur ces caractères, ainsi que sur la teneur en protéines et en matières grasses, la précocité, la résistance à la verse et à divers insectes et maladies (Warman, 2020). Cette technique est utilisée pour maintenir une souche avec toute ses caractéristiques d’une génération à l’autre.

Les lignées pures ainsi développées peuvent être cultivées en parcelles isolées où les pollinisations se font entre individus de la même lignée. Bien que les descendants soient homogènes, ils ne sont pas parfaitement homozygotes : on les désigne comme des lignées épurées ou ‘inbred lines’ (Aliyi, 2017).

3.2.4. Hybridation

L’hybridation est un terme qui désigne le résultat d’un croisement. La création d’hybrides repose sur l’obtention de lignées homozygotes par autofécondations successives, puis, sur le croisement de ces lignées pour produire des F1 à forte vigueur hybride. Cette plus grande vigueur est attribuée à un stimulus de développement physiologique appelée hétérosis (Labroo *et al.*, 2021).

L’hybridation chez les plantes allogames comme le maïs est principalement utilisée pour mettre à profit l’hétérosis, très fréquent chez ces plantes : le produit F1 d’un croisement entre deux plantes différentes de maïs a souvent plus de vigueur que les parents (Labroo *et al.*, 2021).

3.2.4.1. Création d'hybrides

Chez le maïs, l'hybridation permet de développer trois types d'hybrides : hybride simple, hybride trois voies et hybride double (Figure 7).

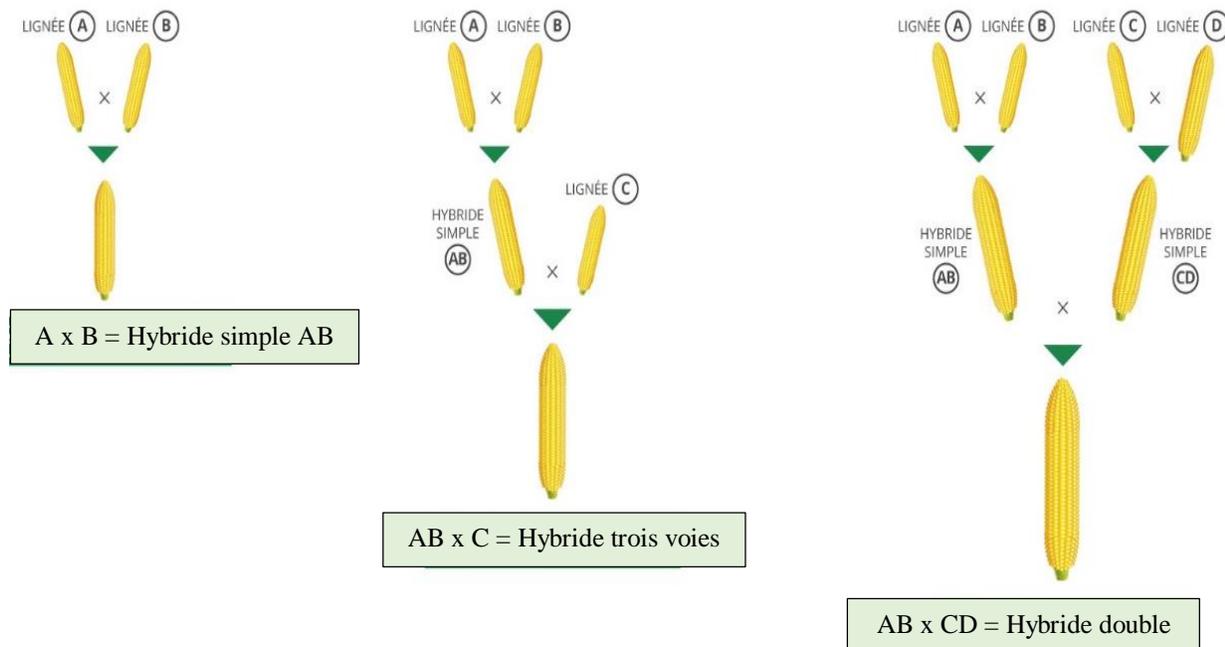


Figure 7: Différents types d'hybrides (SEMAE, 2024)

3.2.4.1.1. Hybride simple

Le croisement de deux lignées pures permet d'obtenir une variété appelée hybride simple. La variété ainsi obtenue est homogène et l'effet hétérosis obtenu peut être maximale (Labroo *et al.*, 2021).

3.2.4.1.2. Hybride trois voies

L'hybride trois voies est obtenu en croisant un hybride simple avec une lignée pure. Dans cette configuration, l'hybride simple est généralement choisi comme parent femelle afin d'assurer une production de semences plus abondante. Comparé à l'hybride simple, l'hybride trois voies présente une base génétique plus large (Lakore *et al.*, 2023).

3.2.4.1.3. Hybride double

Le croisement entre deux hybrides simples permet d'obtenir un hybride double. Cet hybride présente des performances généralement inférieures et une plus grande hétérogénéité phénotypique par rapport aux hybrides simples ou aux hybrides trois voies (Zemach *et al.*, 2023). En effet, l'hybride double cumule les diversités génétiques des deux hybrides simples parents, résultant en une base génétique encore plus large que celle de l'hybride trois voies. Bien que cela puisse apporter une certaine stabilité, cette forte diversité se traduit également par une plus grande variabilité des caractères d'intérêt agronomique au sein de la population (Lakore *et al.*, 2023).

3.2.4.2. Rétrocroisement

Le rétrocroisement sert à transférer un caractère particulier dans une variété qui ne le possède pas. La descendance issue des back-cross successifs entre la variété receveuse et la variété donnant le caractère est soumise à un criblage pour choisir les plantes possédant ce caractère. Celles-ci sont recroisées avec la variété receveuse : c'est le rétrocroisement ou croisement de retour (Lübberstedt *et al.*, 2021). Après plusieurs rétrocroisements (leur nombre sera d'autant plus élevé que l'on veut se rapprocher de la forme de départ), on tend vers la variété de départ enrichie du caractère recherché. Cette méthode peut être utilisée pour transférer des caractères monogéniques, oligogéniques ou même polygéniques pourvue qu'ils soient suffisamment héréditaires. Selon Semagn *et al.* (2007), elle a été utilisée avec succès chez le maïs pour transférer des résistances (virose), des gènes de qualité de grains (*opaque-2*, *sweet*, *pop*, etc.) et des gènes d'intérêt agronomique (nanisme, précocité) Le processus est résumé sur la figure 8.

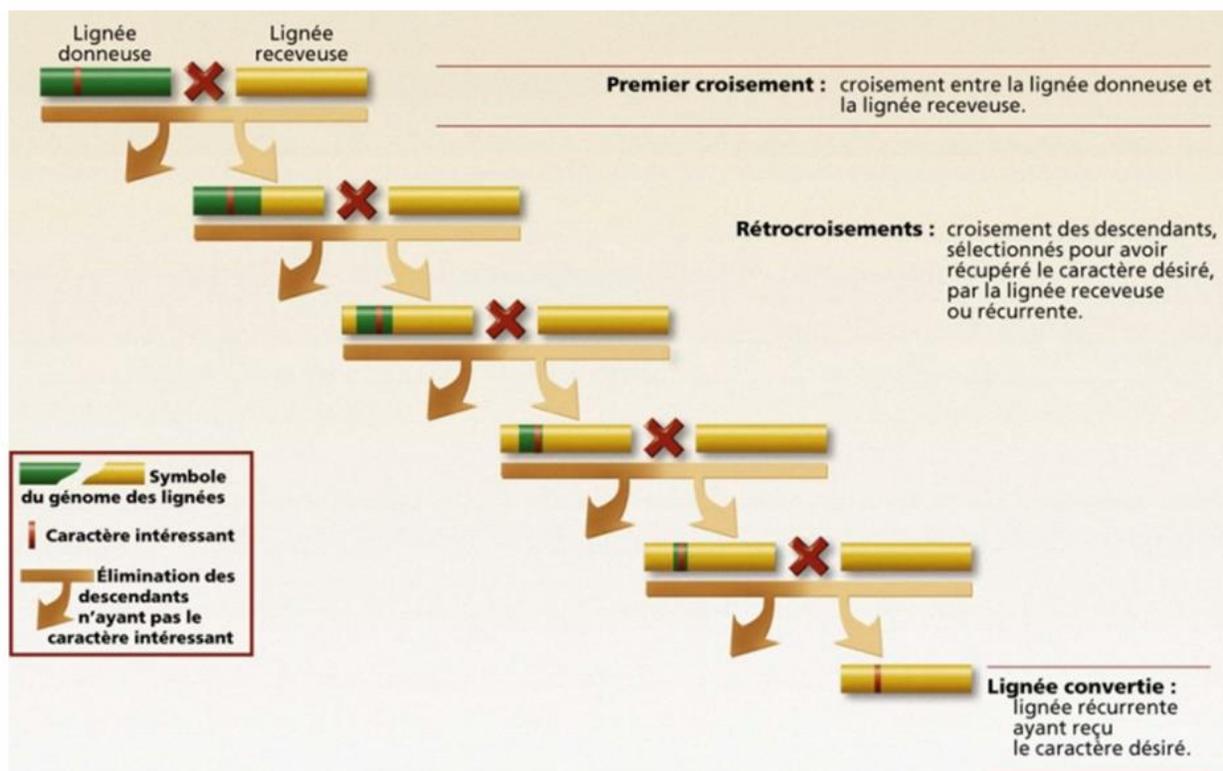


Figure 8: Schéma de l'introduction d'un caractère intéressant dans une lignée par rétrocroisement (SEMAE, 2024)

3.2.5. Création de variétés synthétiques

Une variété synthétique est le résultat de croisement entre un certain nombre (4 à 10) de géotypes préalablement testés. Elle est propagée après pollinisation libre. Les géotypes sont testés pour leur aptitude à la combinaison (Gebremedhin, 2015). Seuls sont utilisés pour produire la variété synthétique, les géotypes qui donnent de bons résultats avec les autres. Les géniteurs choisis sont conservés sous forme de populations, de lignées ou de clones de façon à permettre la reconstitution chaque année du même mélange (Daniel *et al.*, 2021).

La procédure normale consiste à mélanger des quantités égales de semences des géniteurs choisis (géotypes parentales) (Syn0) et à les planter. La pollinisation ouverte est autorisée. La descendance obtenue est Syn1. Celle-ci est distribuée en tant que variété synthétique ou peut être cultivée en isolation pendant une ou deux saisons supplémentaires (Yılmaz-Düzyaman *et al.*, 2022).

Un avantage des variétés synthétiques est leur plasticité : comparées aux hybrides F1, elles sont en effet, hétérogènes et peuvent s'adapter plus facilement à des régions où les conditions de culture diffèrent localement ou varient beaucoup d'une région à l'autre. Les variétés synthétiques peuvent aussi servir de réservoir pour conserver des gènes intéressants (banque de gènes) en vue de leur sélection ultérieure (Gebremedhin, 2015).

3.2.6. Création de variétés cocomposites

Une variété composite est produite en mélangeant des semences de diverses composantes (populations, lignées, hybrides, etc.) phénotypiquement remarquables et en encourageant la pollinisation ouverte pour obtenir toutes les combinaisons possibles parmi les composantes mélangées. Les génotypes utilisés pour produire un composite sont rarement testés pour leur aptitude de combinaison. Il n'est donc pas facile de prédire le rendement des variétés composites (Gupta *et al.*, 2023). La composition des composites peut varier selon les besoins envisagés. Ainsi, le nombre d'entrées (ou composants) utilisées pour former un composite peut être plus ou moins élevé (Henseler & Schuberth, 2020). De ce fait, il a été créé des composites à bases très variables. C'est ainsi que chez le maïs, le Centre international d'amélioration du maïs et du blé (CIMMYT), basé au Mexique, a mis au point une grande diversité de composites génétiques. D'un côté, le CIMMYT a créé des composites mondiaux qui peuvent rassembler plusieurs milliers de constituants différents. Ces "soupes génétiques" très diversifiées ont pour but de constituer de véritables réserves de gènes. De l'autre côté, le CIMMYT a également développé des composites plus restreints, de nature thématique. Ceux-ci regroupent un nombre limité d'entrées, mais qui partagent un gène d'intérêt bien identifié (Tabata, 2005). Entre les composites mondiaux à très large diversité génétique et les composites thématiques plus restreints, il existe toute une gamme d'intermédiaires possibles (Camargo *et al.*, 2023). Un composite représente en fait un pool de gènes (Masoni *et al.*, 2019).

3.2.7. Sélection généalogique

La sélection généalogique ou filiation en autofécondation débute par le croisement de deux plantes dont les caractères sont jugés intéressants et complémentaires. Lorsqu'on croise deux parents, les plantes issues de ce croisement sont hétérozygotes pour un grand nombre de gènes. Afin de réduire ce niveau élevé d'hétérozygotie, ces plantes sont alors autofécondées. Cela permet de produire une nouvelle génération de plantes avec un niveau d'hétérozygotie moindre. Le sélectionneur choisit

alors les meilleurs individus parmi cette nouvelle génération. Ce cycle d'autofécondation suivi de sélection est répété pendant 4 à 5 générations. À l'issue de ce processus, les plantes obtenues sont ensuite autofécondées et testées pendant 4 à 5 générations supplémentaires. Cela permet finalement d'obtenir des lignées fixées, c'est-à-dire génétiquement homogènes (Begna, 2021).

3.2.8. Sélection récurrente

La sélection récurrente débute par le choix des plantes dans une population. Ces plantes sont autofécondées et certaines sont encore éliminées en fonction de caractères qui se manifestent plus tardivement. Les semences récoltées sur les plantes choisies sont semées en ligne et les croisements sont réalisés entre les lignes manuellement ou par pollinisation libre (Pang *et al.*, 2017).

Les semences récoltées sur les différentes lignes sont mélangées à partie égale et semées. Une population synthétique est obtenue. Un nouveau cycle de sélection peut être entrepris dans cette population. La population obtenue après quelques cycles (sélection suivie de croisement) de cette sélection récurrente sont destinées à produire des variétés synthétiques (Gebremedhin, 2015).

3.3. Amélioration par la biotechnologie

Le maïs est une plante dont l'amélioration par les techniques de biotechnologie est des plus avancées (Yassitepe *et al.*, 2021).

3.3.1. Haplodiploïdisation

L'haplodiploïdisation est une technique qui consiste à obtenir des plantes haploïdes (n) à partir des organes mâles ou femelles, puis, à produire des plantes diploïdes par le doublement du stock chromosomique. Cette technique est utilisée pour fixer plus rapidement le matériel génétique en cours de sélection. Cette approche permet de produire des lignées pures en seulement une étape, contre 7 à 8 générations nécessaires avec les méthodes classiques. Cela a pour effet de raccourcir considérablement la durée d'un cycle de sélection, qui peut ainsi être réduite de 3 à 4 ans (Jacquier *et al.*, 2020).

Le processus d'haplodiploïdisation débute par le croisement de deux lignées parentales présentant des caractéristiques intéressantes et complémentaires. Ce croisement produit la génération F1. Les plantes de cette génération F1 sont toutes identiques, car issues du même croisement. Elles servent alors de plantes mères pour l'obtention de la phase haploïde. Lors de la méiose qui se produit dans ces plantes F1, les recombinaisons et la ségrégation des caractères s'opèrent, conformément aux lois de Mendel. L'obtention des plantes haploïdes peut se faire par le prélèvement de gamétophytes

(haploïdes) sur les plantes de la F1, suivi de leur ensemencement et leur régénération (Bordes *et al.*, 1997).

Une autre approche pour obtenir des haploïdes est l'induction d'haploïdes *in situ*. Dans ce cas, les plantes F1 issues du croisement initial sont à nouveau croisées, mais, cette fois avec un inducteur spécial. Lors de cette fécondation, les chromosomes incompatibles du parent pollinisateur (l'inducteur) sont naturellement rejetés (Jacquier *et al.*, 2020). Il est également possible de provoquer une fécondation anormale en utilisant du pollen dénaturé. Dans ces deux situations, le résultat est le développement d'un embryon haploïde, ne contenant que la moitié du matériel génétique normal. Ces embryons haploïdes sont ensuite sauvés et mis en culture *in vitro*, sur des milieux de culture spécifiques. Cela permet à l'embryon de se développer et aux tissus de se différencier, aboutissant finalement à l'obtention de plantes haploïdes (Rogo *et al.*, 2023).

Après obtention des plantes haploïdes selon l'une ou l'autre de ces voies, un doublement des chromosomes est réalisé par l'action d'un agent chimique telle que la colchicine. Les plantes finalement obtenues par ce processus d'haplodiploïdisation sont des diploïdes homozygotes. Cela signifie qu'elles possèdent deux copies identiques de chacun de leurs chromosomes et donc des paires de gènes ou d'allèles identiques. Cette homozygotie est très intéressante pour les sélectionneurs, car elle permet d'obtenir des lignées pures, stables et reproductibles. Ces plantes diploïdes homozygotes (dihaploïdes) sont ensuite acclimatées et la sélection se poursuit en serre et au champ. Le sélectionneur évalue alors les différentes plantes en fonction des critères agronomiques et technologiques qu'il recherche (rendement, résistance aux maladies, qualité du produit, etc.). Ce tri et cette évaluation sur le terrain permettent de sélectionner les meilleures lignées, qui pourront ensuite être multipliées et commercialisées. (Navarro-Alvarez *et al.*, 2006 ; Hooghvorst *et al.*, 2021). Chez le maïs, des lignées haploïdes doublées ont été obtenues aux Etats-Unis et en France, et des hybrides entre lignées haploïdes doublées sont vulgarisés en Chine (Vijay *et al.*, 2019 ; Trindade, 2022).

3.3.2. Transgénèse

La transgénèse consiste à introduire, par les outils du génie génétique, un gène étranger dans une cellule végétale afin de lui conférer un nouveau trait phénotypique (Kastler, 2017). L'origine biologique des gènes utilisés est très diverse. Grâce aux techniques de génie génétique, il est désormais possible de transférer des gènes provenant d'autres espèces végétales ou même

d'organismes comme les champignons et les bactéries. Cela permet d'élargir considérablement les ressources génétiques disponibles pour la sélection. Les progrès réalisés ces dernières années dans le domaine des biotechnologies permettent maintenant d'introduire non pas un seul gène, mais plusieurs gènes à la fois dans une même plante (Gaufichon *et al.*, 2010). Les gènes transférés chez le maïs par la transgénèse sont surtout des gènes de résistance (herbicides, insectes, virus), mais aussi, des gènes de stérilité mâle. Dans ce cadre, les laboratoires Monsanto et Ciba Geigy ont développé des lignées de maïs Bt ayant reçu un gène de résistance à la pyrale, provenant de *Bacillus thuringiensis* (Liu *et al.*, 2023).

3.4. Amélioration par mutation induite

La sélection par mutation, ou sélection par variation, est une approche qui consiste à induire des modifications génétiques aléatoires dans les plantes, afin de générer de nouveaux variants génotypiques. Pour ce faire, l'on fait appel à différentes techniques, comme l'irradiation ou l'utilisation de produits chimiques mutagènes (Holme *et al.*, 2019 ; FAO/AIEA, 2020). La sélection par mutation est une approche qui a été développée dès les années 1930. Son objectif est d'accélérer la mise au point et la sélection de nouvelles caractéristiques agronomiques utiles chez les plantes. Cette méthode se base sur le patrimoine génétique naturel des plantes. Elle imite le processus de mutation spontanée qui se produit dans la nature, afin de générer une plus grande diversité d'individus présentant des variations intéressantes (Anter, 2023).

3.4.1. Définition des mutations

Les mutations sont des changements héréditaires qui se produisent dans le matériel génétique des organismes vivants (Merlin, 2013). Les mutations sont à l'origine de la plupart des variations génétiques et constituent le moteur de l'évolution. Il s'agit d'un processus naturel (mutation spontanée) qui touche, de manière spontanée les êtres vivants, et qui se traduit par une altération de leur matériel génétique, qui peut entraîner des modifications de leur organisme. Cependant, les mutations peuvent être provoquées (mutations induites) par des méthodes chimiques ou physiques, pour obtenir des propriétés bénéfiques (Loewe & Hill, 2010). Ainsi, des agents mutagènes chimiques ou physiques (Figure 9), sont utilisés pour induire artificiellement des modifications héréditaires et bénéfiques dans le domaine de l'agriculture.

Les agents mutagènes ont des actions aléatoires, c'est-à-dire qu'ils peuvent modifier n'importe quelle partie du génome. Il existe une spécificité des agents mutagènes dans la mesure où, pour un

agent donné, certains changements de séquence sont privilégiés par rapport aux autres. C'est ainsi que, pour sa supériorité de pénétrance, le rayonnement gamma est régulièrement utilisé sur les graines et d'autres types de germoplasme afin d'induire des caractères nouveaux d'intérêt (FAO/AIEA, 2020).

Le processus de sélection par mutation se déroule en deux phases principales (FAO/AIEA, 2020).

- L'induction de mutations : des traitements d'irradiation ou l'utilisation de produits chimiques mutagènes sont appliqués aux plantes afin de générer des modifications génétiques aléatoires.

- La sélection des mutants : parmi les nombreux individus mutants ainsi obtenus, les sélectionneurs identifient et retiennent ceux qui présentent les caractéristiques d'intérêt, comme de meilleures performances agronomiques.

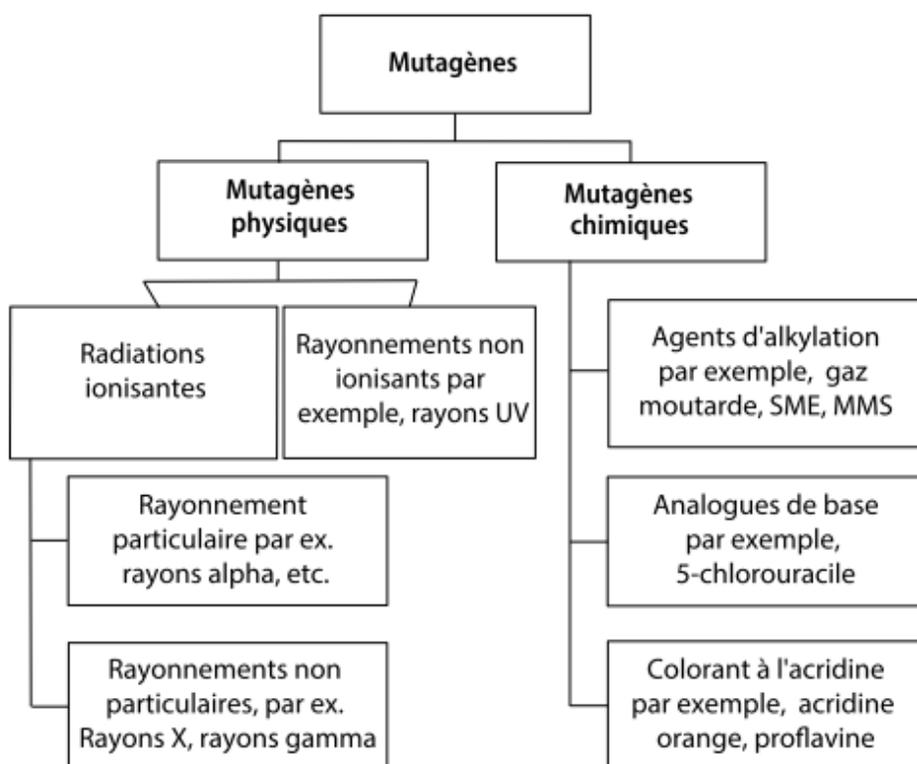


Figure 9 : Mutagènes courants utilisés dans l'induction de mutations de plantes (FAO/AIEA, 2020)

3.4.2. Induction de mutations au rayonnement gamma

Plus de 70 % des variétés végétales mutantes qui ont été développées et diffusées ont été obtenues grâce à l'utilisation de mutagènes physiques. Depuis les années 1960, les rayons gamma sont devenus l'agent mutagène le plus fréquemment employé dans les programmes d'amélioration des plantes par mutagenèse (Li *et al.*, 2019). Le rayonnement gamma est une onde électromagnétique comme la lumière visible ou les rayons X, mais, plus énergétique. Il est généré par la désintégration d'un noyau atomique. Les principales sources de rayons gamma sont les isotopes Cobalt-60 (^{60}Co) et Césium-137 (^{137}Cs) (FAO/AIEA, 2020 ; Balakrishnan *et al.*, 2021). L'exposition aux rayons gamma peut causer des mutations génétiques. Comme tout mutagène physique, le rayonnement gamma entraîne le plus souvent des délétions importantes d'ADN. Le degré de mutation dépend du tissu ainsi que du dosage et de la durée de l'exposition (Du *et al.*, 2022). Pour l'induction de mutations au rayonnement gamma chez les végétaux, les graines, d'autres propagules (pollen, sport ou bouture, etc.) ou des plantes entières sont exposées à une source de rayons gamma tel que le Cobalt-60 pour irradiation. Lorsque les mutations génétiques induites par les traitements mutagènes ne sont pas réparées par les mécanismes de réparation naturels des cellules, cela conduit à l'obtention de mutations héréditaires (Riviello-Flores *et al.*, 2022).

3.4.3. Sélection des mutants après irradiation au rayon gamma

La découverte de la possibilité d'induire artificiellement des mutations à l'aide de mutagènes constitue l'une des avancées les plus marquantes dans l'histoire de la génétique (Xin, 2023). Cette capacité d'induire des modifications génétiques, ainsi que la détection des mutations résultantes, sont devenues des éléments clés de la sélection par mutation.

Depuis plus de 70 ans, cet outil est largement utilisé par les phytogénéticiens pour accroître la diversité génétique des plantes cultivées. Ils peuvent ainsi identifier et sélectionner de nouvelles lignées mutantes présentant des caractéristiques agronomiques améliorées, telles qu'une meilleure productivité ou une résistance accrue aux stress (Riviello-Flores *et al.*, 2022).

La sélection des mutants consiste à identifier parmi les plantes issues d'un traitement mutagène par irradiation, celles qui présentent les caractéristiques améliorées recherchées. En effet, les mutations se produisent à des fréquences très faibles. Pour obtenir une propriété d'intérêt, il est donc nécessaire d'irradier un grand nombre de graines, de les semer, puis de réaliser des cycles successifs de sélection et de multiplication sur plusieurs générations. Ce processus laborieux permet

progressivement d'isoler les lignées végétales porteuses des mutations bénéfiques souhaitées, comme une meilleure productivité ou une résistance accrue aux stress (Mullins *et al.*, 2021). Pour ce faire, les techniques de sélection conventionnelle comme la sélection généalogique ou d'autres, peuvent être utilisées. Au début du processus de sélection, il est important de ne pas confondre les mutations avec des troubles physiologiques non héréditaires. En effet, ces troubles physiologiques peuvent parfois présenter des phénotypes similaires à ceux induits par de véritables mutations génétiques (Lundqvist *et al.*, 2012). Ceci est particulièrement important dans la détection de mutants à la première génération de mutants (M1). En effet, des plantes M1 souffrent souvent de désordres physiologiques dus aux traitements par les agents mutagènes. Aussi, la M1 ne doit pas être utilisée pour la sélection phénotypique des mutants. C'est la génération M2 qui doit être la première occasion pour la détection des mutants (FAO/AIEA, 2020). La figure 10, montre le schéma de sélection des plantes par la mutation induite. Les variétés végétales obtenues par sélection après irradiation sont toutes aussi saines que celles issues de sélection conventionnelle. L'irradiation elle-même ne se transmet pas aux générations suivantes de la plante irradiée. En effet, le processus de mutagenèse par irradiation ne laisse pas de traces dans le génome des mutants sélectionnés. Seules les mutations bénéfiques sont conservées et transmises, sans qu'il y ait de risque de transfert des effets de l'irradiation. Ainsi, les descendants des plantes irradiées ne sont pas radioactifs (Ma *et al.*, 2021).

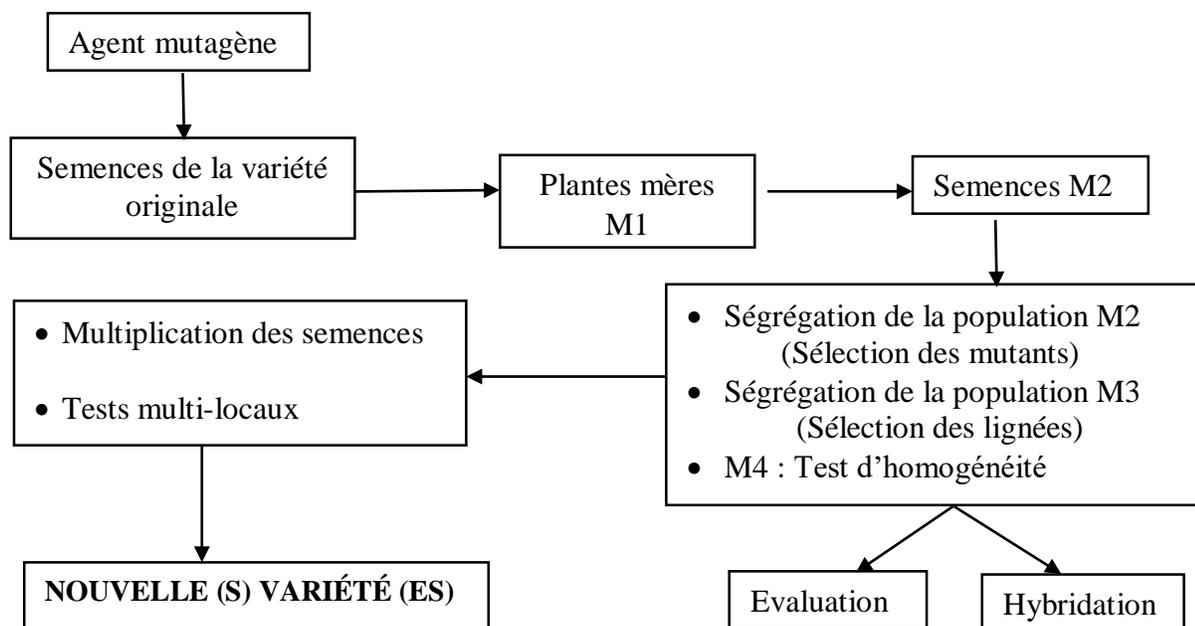


Figure 10: Schéma d'amélioration par la mutation induite (Yusuff *et al.*, 2016)

3.4.4. Contribution de la mutation induite à la sécurité alimentaire mondiale

La disponibilité d'une quantité suffisante de nourriture constitue l'une des principales priorités des gouvernants des pays en développement. L'usage de la mutagenèse dans les programmes de sélection des différentes cultures dans le monde entier a officiellement enregistré plus de 3 300 variétés mutantes au cours des 85 dernières années (Ghanim, 2024). Une grande majorité des variétés mutantes homologuées (céréales, légumineuses, plantes oléagineuses, racines et tubercules, plantes ornementales) l'ont été dans les pays en développement, ce qui a eu un impact économique positif. La sélection par mutagenèse des plantes demeure un outil très efficace pour préserver et renforcer la sécurité alimentaire mondiale (Sarsu, 2021).

En Asie, plus de 60 % des variétés cultivées dérivent de mutations induites. La Chine, le Japon et l'Inde sont les pays qui ont enregistré le plus grand nombre de variétés mutantes ayant un impact sur la sécurité alimentaire (Ahloowalia, 2004 ; Sarsu, 2021).

En Europe, la recherche fondamentale sur les mutations a débuté à la fin des années 1920. La sélection par mutagenèse est devenue une méthode importante dans les programmes européens de sélection végétale, ce qui a permis la création et la mise sur le marché de 959 variétés mutantes, en particulier pour le blé et l'orge (Zakir, 2018).

Aux États-Unis, 139 variétés mutantes ont été développées. La première parmi ces variétés était le riz semi-nain, 'Calrose 76', qui est issue de l'irradiation gamma et est officiellement diffusée depuis 1977 en Californie. Ce gène est transféré par la suite, par croisement à avec d'autres variétés et a conduit au développement de 22 nouveaux cultivars de riz aux États-Unis, en Australie et en Égypte (Rutger, 2009 ; Sarsu, 2021).

En Afrique, les variétés mutantes de riz semi-naines, 'Giza 176' et 'Sakha 101', ont été homologuées en Egypte au cours des années 1990, avec un rendement standard passant brusquement de 3,8 à 8,9 t/ha. De plus, la variété 'Giza 196' est cultivée en tant que variété principale avec un rendement de 10 t/ha (Kharkwal & Shu 2009). La technique de mutation induite a également été appliquée avec succès aux plantes oléagineuses comestibles, telles que le sésame et le carthame. Ainsi, cinq variétés de sésame ont été développées avec un rendement élevé et une bonne qualité entre 1992 et 1996. Deux variétés de carthame ont été mises sur le marché en 2011, avec des rendements élevés et riches en acide gras oléique. Ces variétés sont résistantes à la tâche des feuilles et à la maladie du charbon ; contribuant ainsi à augmenter les revenus des agriculteurs du pays

(FAO/IAEA, 2023). D'autres variétés mutantes tel que le manioc 'Tekbankye', au Ghana, présentant une excellente qualité de cuisson, de pilage et tolérante au virus africain de la mosaïque du manioc, a été homologuée en 1997 (Oppong *et al.*, 2021). En Namibie, quatre variétés de sorgho et sept variétés de niébé avec des rendements supérieurs de 10 à 20 % à ceux des cultivars locaux dans des conditions de sécheresse ont été distribuées aux agriculteurs (Horn *et al.*, 2018). Au Soudan, la sélection par mutation induite a abouti au développement d'une variété de banane « Albeely » à haut potentiel de rendement. De plus, une variété d'arachide tolérante à la sécheresse, « Tafra-1 », a été mise sur le marché en 2018, pour les agriculteurs, ce qui a permis d'améliorer leurs moyens de subsistance et d'augmenter les exportations du pays (Abdalla *et al.*, 2018).

En Côte-d'Ivoire, la sélection par mutagénèse a débuté dans les années 1970 sur le café en utilisant la mutation chimique pour créer des tétraploïdes et des doubles haploïdes afin de faire des croisements inter-espèces entre *Coffea Arabica* L. et *Coffea canephora*. Ces travaux ont conduit au développement de nouvelles espèces appelées *C. arabusta* (Capot. 1972). Plus récemment, le Centre national de recherche agronomique (CNRA), en collaboration avec l'AIEA, a lancé un programme de sélection de mutations sur l'igname, le manioc et le plantain par usage de rayons gamma (Sarsu, 2021).

4. CARACTERISATION DES RESSOURCES PHYTOGENETIQUES

4.1. Notion diversité génétique

La diversité génétique fait référence à la variation qui existe au niveau des gènes chez un individu, une population, une espèce ou une communauté (Parizeau, 1997). En d'autres termes, elle représente le degré de similarité ou de différence dans la composition génétique. Cette diversité génétique constitue le fondement même de la biodiversité. Elle est extrêmement importante car elle représente le matériel de base sur lequel peut travailler le sélectionneur pour développer de nouvelles variétés. De plus, la diversité génétique peut être considérée comme une forme d'assurance, permettant aux organismes de s'adapter à de nouvelles conditions environnementales (Lewin, 1992).

4.2. Étude de diversité

L'utilisation efficace de la diversité génétique dans les programmes d'amélioration végétale passe nécessairement par son évaluation et le choix du type de marqueur le plus adapté pour la mesurer (De Vienne, 1998). Les différentes méthodes d'analyse de la diversité se basent sur l'utilisation de marqueurs qui renseignent sur le niveau de polymorphisme génétique. Trois principales catégories de marqueurs sont largement employées à cette fin : les marqueurs morphologiques, biochimiques et moléculaires. Ces marqueurs permettent de caractériser les individus et de connaître leur niveau de diversité génétique. Ils servent ainsi de base pour classer et différencier les organismes lors des analyses (Kumar *et al.*, 2022).

4.2.1. Marqueurs morphologiques

Les marqueurs morphologiques font partie des premiers outils utilisés pour étudier la diversité génétique (Yasui, 2020). Ils se basent sur les caractéristiques phénotypiques des individus, comme le cycle de maturation, le rythme de croissance, la forme des feuilles, la pilosité, etc. (Stavridou *et al.*, 2021). Ces marqueurs permettent de discriminer et de différencier les individus grâce à leurs traits morphologiques observables. Ils sont relativement simples d'utilisation, peu coûteux et permettent d'examiner et de classer de grandes quantités de matériel génétique (FAO, 1995). Malgré leur intérêt pour les études de diversité génétique (Anderson *et al.*, 2006), les marqueurs morphologiques présentent certaines limites. Leur nombre est restreint, ils sont rarement codominants, peu polymorphes et peuvent être influencés par des facteurs environnementaux (Matus & Hayes, 2002). Les marqueurs morphologiques ont servi à caractériser

des génotypes de maïs notamment en Côte d'Ivoire par N'da *et al.* (2023), au Togo par Agbodan *et al.* (2020), Moussa *et al.* (2018) au Niger et Salami *et al.*, (2020) au Bénin.

4.2.2. Marqueurs biochimiques

L'électrophorèse sur gel a permis l'utilisation des marqueurs biochimiques, comme les allozymes, qui révèlent les variantes protéiques. Cette technique se base sur la migration différentielle des protéines à travers un gel sous l'effet d'un champ électrique. La vitesse de migration dépend de la conformation, du poids moléculaire et de la charge électrique globale des protéines. L'étude des allozymes est devenue un outil standard pour analyser la variation biochimique et fournir une première estimation non biaisée de la variabilité génétique (Harry, 2001). Ces marqueurs permettent de mettre en évidence le polymorphisme de séquence de certaines protéines, reflétant indirectement le polymorphisme des séquences d'ADN qui les codent. Ils sont généralement considérés comme neutres vis-à-vis des conditions environnementales (Ouazzani *et al.*, 1993). Cependant, les marqueurs protéiques ont pour principale limite de sous-estimer la variabilité génétique observée (Pasteur *et al.*, 1987). En effet, les protéines ne représentent que 5 à 20 % du génome, correspondant aux régions codantes. Ainsi, l'information génétique révélée par ce type de marqueur ne concerne qu'une partie du génome, ne reflétant pas la totalité de l'information contenue dans l'ADN.

4.2.3. Marqueurs moléculaires

L'ADN, qui constitue les chromosomes, contient l'information génétique de chaque individu. Il est composé de quatre bases azotées : l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) et la cytosine (C). L'ordre spécifique de ces bases le long des chromosomes représente l'information génétique portée par l'ADN (Minchin & Lodge, 2019). Il existe de multiples différences dans cet enchaînement de bases entre deux variétés, voire au sein d'une même variété. Ces différences peuvent prendre la forme de substitutions ponctuelles d'une base par une autre ou de l'insertion d'un fragment d'ADN à un endroit précis du chromosome (Hanson & Wolfe, 2017). L'utilisation de marqueurs moléculaires permet de visualiser une ou plusieurs des différences nucléotidiques existant au niveau de la molécule d'ADN (Figure 11). Les marqueurs moléculaires correspondent donc à ces variations dans la séquence d'ADN, qu'elles se trouvent ou non dans des régions codantes. Contrairement aux marqueurs biochimiques comme les allozymes, les marqueurs moléculaires ciblent directement le polymorphisme de la séquence d'ADN elle-même. Ils révèlent ainsi de

manière plus précise et complète la variabilité génétique présente au niveau du génome (Pespeni *et al.*, 2010).

Afin de révéler les empreintes génétiques de deux variétés, on commence par extraire l'ADN, généralement à partir d'un échantillon de feuilles. On cible ensuite une ou plusieurs séquences d'intérêt au sein de cet ADN, et on les multiplie en millions de copies grâce à la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction). Ensuite, ces séquences amplifiées sont soumises à une électrophorèse. Lors de ce processus, les molécules d'ADN se déplacent dans un gel sous l'influence d'un courant électrique, à une vitesse dépendante de leur taille. Cela permet de mettre en évidence les différences de taille entre les séquences de deux ou plusieurs variétés. Chaque marqueur moléculaire va ainsi donner une empreinte génétique spécifique à chaque variété, comparable à un code-barres permettant de les identifier. L'utilisation de ces marqueurs moléculaires offre donc un moyen fiable, rapide et spécifique de caractériser et de différencier les génomes des différentes variétés (De Vienne, 1998). Contrairement aux caractères phénotypiques, qui peuvent être influencés par des facteurs environnementaux, les marqueurs moléculaires permettent d'éviter ces complications. Ils ciblent directement les variations au niveau de la séquence d'ADN, offrant ainsi une évaluation plus fiable et plus précise de la variabilité génétique. Cette propriété fait des marqueurs moléculaires des outils très utiles pour l'étude et la sélection des ressources génétiques dans les programmes d'amélioration végétale. Ils permettent d'accéder directement à l'information génétique sous-jacente, sans les biais liés à l'expression phénotypique. (Hasan *et al.*, 2021).

Il existe plusieurs types de marqueurs moléculaires, correspondant à différentes techniques d'analyse de l'ADN. Les plus connus sont : RAPD, RFLP, AFLP, SSR, ISSR et SNP.

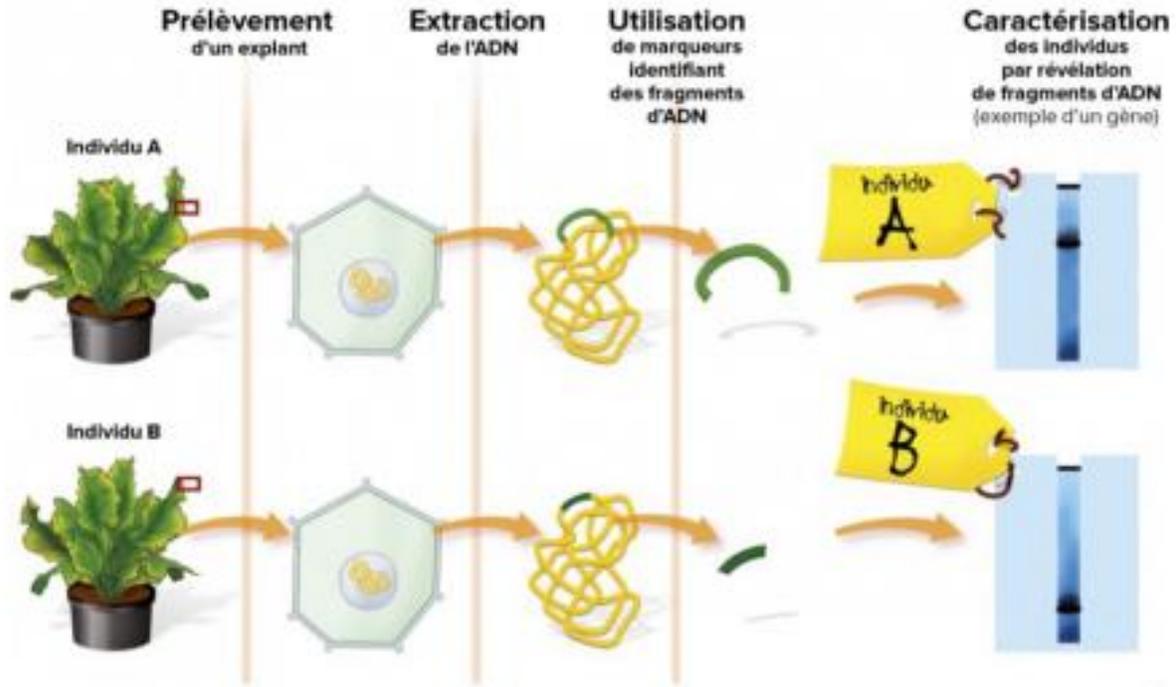


Figure 11: Principe général de l'utilisation des marqueurs moléculaires pour la comparaison d'individus (SEMAE, 2024)

4.2.3.1. Random Amplified Polymorphic DNA ou amplification aléatoire d'ADN polymorphe (RAPD)

Cette technique consiste à réaliser une amplification PCR avec des amorces d'environ 10 pb définies de façon aléatoire. Si les deux sites d'hybridation sont suffisamment proches, alors l'amplification PCR est possible. Une variation dans la séquence des sites entre individus sera détectée par un polymorphisme du nombre et de la longueur des fragments d'ADN amplifiés (Williams *et al.*, 1990). Si l'un des sites cibles est absent chez un autre individu, il n'y aura pas d'amplification de la séquence correspondante lors du processus de marquage. Cela se traduira par l'observation d'un polymorphisme de présence/absence du fragment amplifié. (Figure 12)

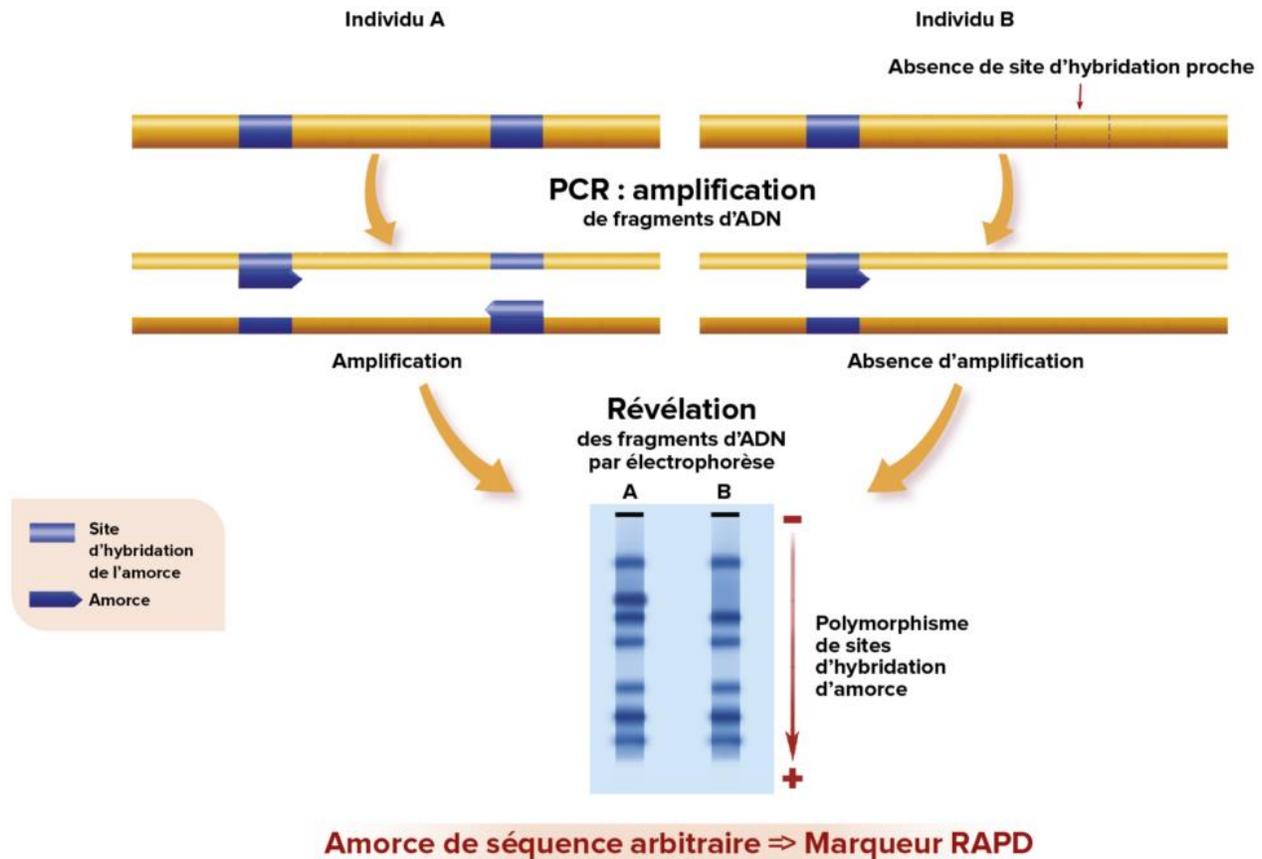


Figure 12: Amplification aléatoire de l'ADN avec des amorces de séquence arbitraire (SEMAE, 2024)

4.2.3.2. Restriction Fragment Length Polymorphisms ou Polymorphisme de la longueur des Fragments de restrictions (RFLP)

La technique RFLP (Figure 13) correspond à l'identification de fragments particuliers, homologues entre plusieurs individus grâce à l'utilisation de sondes moléculaires. La particularité de la technique RFLP réside dans le fait qu'une simple substitution d'une seule paire de bases dans la séquence d'ADN peut suffire à empêcher la reconnaissance et la coupure par l'enzyme de restriction utilisée. C'est cette spécificité qui est utilisée pour la mise en évidence du polymorphisme. En effet, la présence ou l'absence d'un site de reconnaissance pour une enzyme de restriction donnée dans la séquence d'ADN entraîne un polymorphisme de longueur des fragments générés après la digestion enzymatique. La technique RFLP présente un bon potentiel de transfert entre espèces, même assez éloignées (Santoni *et al.*, 2000).

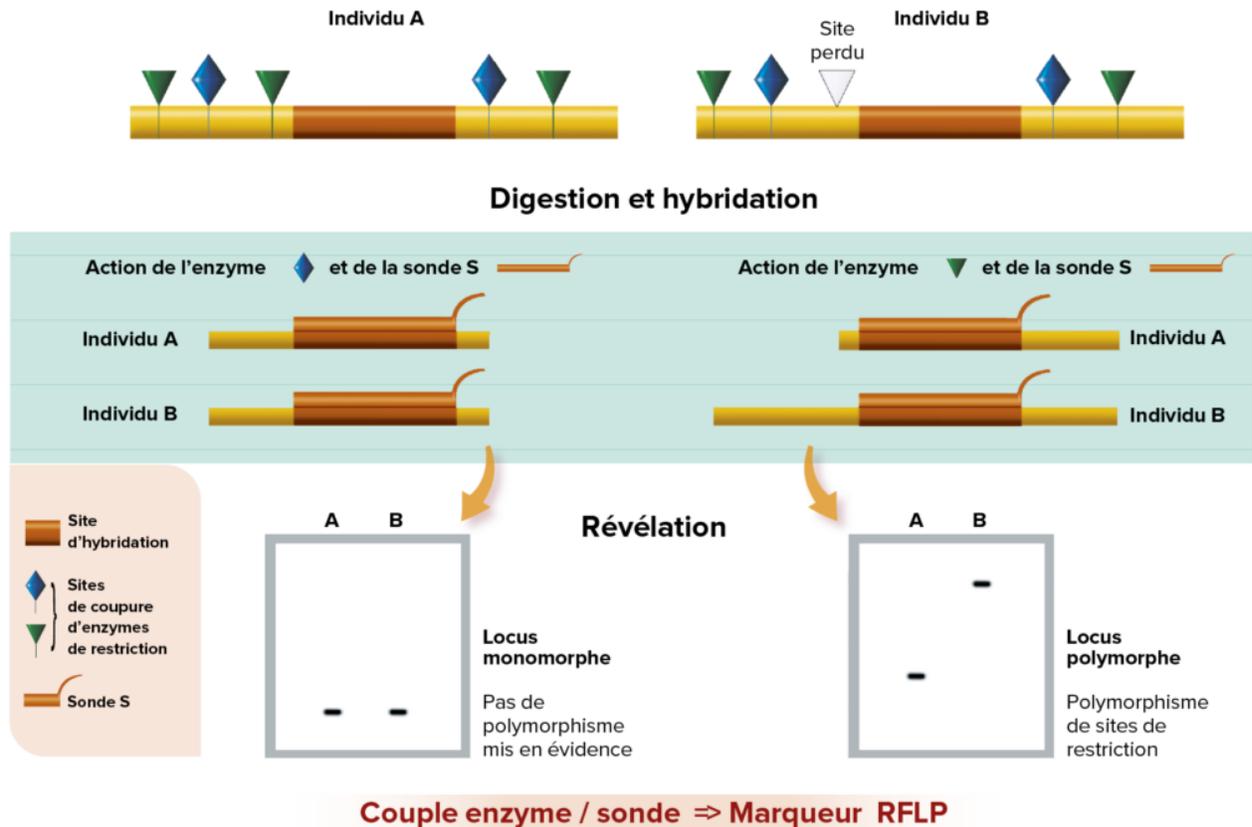


Figure 13: Principe de la technique RFLP (SEMAE, 2024)

4.2.3.3. Amplified Fragment Length Polymorphism ou polymorphisme de longueur des fragments amplifiés (AFLP)

La technique AFLP est basée sur la mise en évidence du polymorphisme de site de restriction et d'hybridation aléatoires d'amorces. L'ADN purifié est d'abord coupé par deux enzymes de restriction (EcoRI et MseI). Elles ont la capacité de couper l'ADN au niveau de sites nucléotidiques spécifiques, appelés sites de restriction. Ces sites de restriction sont généralement composés d'un nombre pair de paires de bases, le plus souvent 4, 6 ou 8 paires de bases. Après la digestion de l'ADN par les enzymes de restriction, des adaptateurs de séquence connue, d'une longueur comprise entre 10 et 15 paires de bases, sont ajoutés aux extrémités cohésives des fragments d'ADN générés. Deux cycles successifs d'amplifications sélectives sont réalisés à l'aide d'un couple d'amorce (Figure 14). Le nombre de fragments amplifiés détermine le nombre de bandes produites en fonction de la taille du génome. La technique AFLP permet de révéler un polymorphisme de type présence/absence (Vos *et al.*, 1995). Cette technique est plus utilisée dans la réalisation des

empreintes génétiques hautement informatives afin de comparer des génotypes génétiquement très proches.

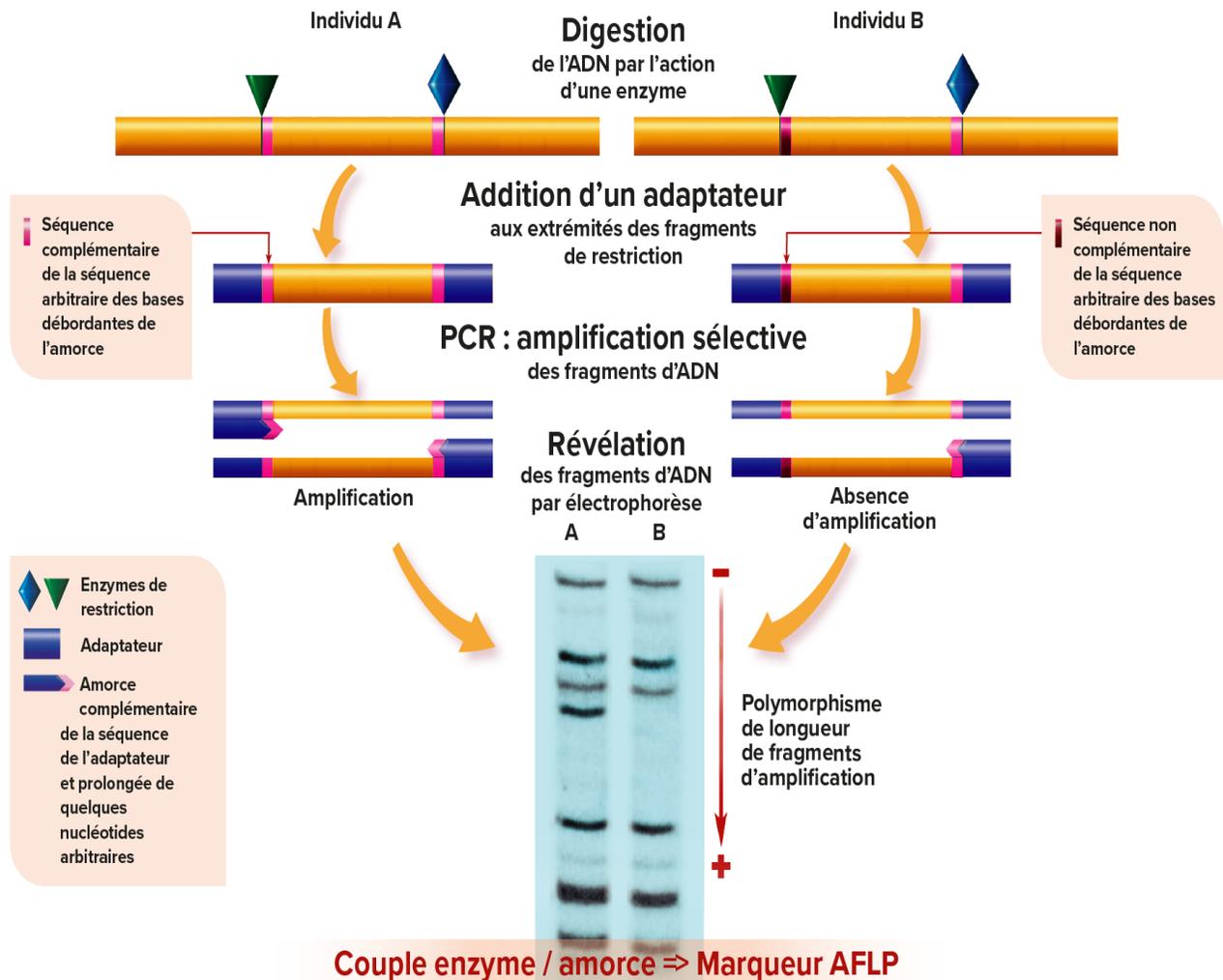


Figure 14: Principe de la technique d'AFLP (SEMAE, 2024)

EcoRI et MseI : enzymes de restriction PCR : Polymerase Chain Reaction

4.2.3.4. Simple Sequences Repeats ou microsatellites ou séquences simples répétées (SSR)

Un microsatellite ou SSR est une séquence d'ADN constituée de répétitions en tandem de motifs mono, di, tri ou tétra nucléotidiques (Figure 15). Les plus courantes sont (A)_n, (AT)_n, (GA)_n, (GT)_n, (TAT)_n, (GATA)_n, etc., la valeur de *n* pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. De tels motifs sont très abondants dans le génome des organismes eucaryotes. Chez les végétaux supérieurs, les premières estimations indiquent qu'il y aurait en moyenne un microsatellite di-

nucléotidique tous les 30 à 100 kb (Morgante & Olivieria, 1993). Ce type de séquence d'ADN constituée de courts motifs répétés, appelés microsatellites ou SSR, est très fréquent dans les génomes.

4.2.3.5. Inter Simple Sequence Repeat ou Séquences Inter-microsatellites (ISSR)

Parmi les différents types de marqueurs moléculaires disponibles, tels que les RFLP, AFLP, RAPD, SSR, SNP et autres, les marqueurs ISSR présentent des avantages particuliers pour l'étude de la diversité génétique. En effet, les marqueurs ISSR, basés sur l'amplification des régions situées entre les séquences microsatellites, se caractérisent par leur simplicité de mise en œuvre et leur coût relativement faible comparé à d'autres approches moléculaires (Abdelazi *et al.*, 2020 ; Hossain *et al.*, 2020). La technique ISSR, principalement développée par Zietkiewicz *et al.* (1994), repose sur l'amplification par PCR des régions situées entre les séquences microsatellites. Contrairement aux marqueurs SSR qui ciblent directement les motifs répétés des microsatellites, la technique ISSR vise à amplifier les régions présentes entre ces répétitions microsatellites (illustrée dans la Figure 15). Dans cette approche, les amorces utilisées sont constituées d'une séquence de microsatellites, et parfois d'une partie arbitraire en 5' ou en 3' (appelées amorces ancrées). Concrètement, la technique ISSR repose sur une simple réaction de PCR qui permet d'amplifier les fragments d'ADN flanqués de régions microsatellites. Contrairement à l'utilisation d'amorces spécifiques ciblant les séquences flanquantes des microsatellites, la méthode ISSR n'a pas besoin de connaître préalablement la séquence étudiée. Cela confère à cette technique l'avantage de pouvoir amplifier un grand nombre de fragments d'ADN en une seule réaction PCR. De plus, les marqueurs ISSR se sont révélés supérieurs aux marqueurs RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) en termes de détection du polymorphisme génétique et de reproductibilité des résultats (Ye *et al.*, 2008). La technique d'amplification inter microsatellites (ISSR) est une méthode flexible qui peut être utilisée dans de nombreux domaines de la recherche génétique (Yin *et al.*, 2002). Elle s'avère particulièrement utile pour les études de diversité génétique, de génétique des populations, de taxonomie moléculaire, de recherche de mutants somatiques et de cartographie génétique. Jusqu'à présent, les ISSR ont été largement employés dans l'étude de la diversité génétique d'espèces forestières ou d'intérêt agronomique, comme le maïs. Dans ces contextes, les marqueurs ISSR ont souvent été utilisés en complément à d'autres techniques moléculaires telles que les RAPD ou les RFLP, ou bien pour réaliser des comparaisons entre différentes approches (El-Hosary & El-Akkad, 2018 ; Soliman M *et al.*, 2021).

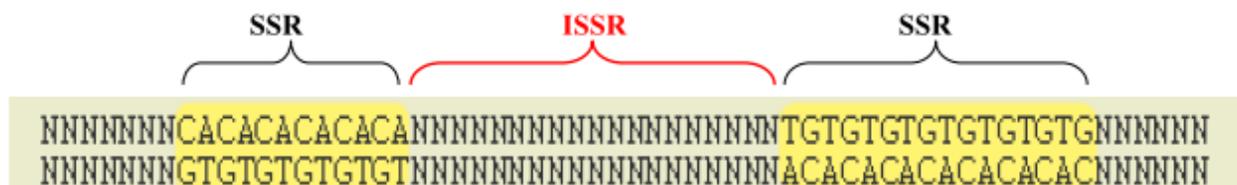


Figure 15: Fragment schématique d'ADN présentant des microsatellites (SSR) et des régions inter-microsatellites (ISSR) (Tagu, 1999)

4.2.3.6. Single-Nucleotide Polymorphism ou polymorphisme nucléotidique unique (SNP)

Les SNP, ou polymorphismes de nucléotide unique, correspondent à des variations génétiques au niveau d'un seul nucléotide dans la séquence d'ADN, entre différents individus d'une même espèce. Par exemple, un SNP peut correspondre au changement de la séquence simple brin AGGCTGA en AGGTTGA (Santoni *et al.*, 2000). Ces modifications ponctuelles sont en fait les mutations les plus fréquentes dans le génome avec les petites insertions/délétions (Rafalski, 2002). Robert & Pelletier (2018) ont montré que chez l'être humain, elles se produisent en moyenne toutes les 100 à 300 bases. Les différents types de SNP sont les transitions (changement de A par T ou de G par C et réciproquement) et les transversions (changement de A par G ou C ou de T par G ou C et réciproquement).

La source principale de polymorphisme dans un génome est l'apparition de mutations ponctuelles (Figure 16) qui modifient une seule paire de bases (Nordstrom *et al.*, 2000). Lorsqu'une variation d'un seul nucléotide atteint une fréquence d'au moins 1 % au sein d'une population, elle peut alors être utilisée comme marqueur génétique, et est alors qualifiée de SNP (Carlson *et al.*, 2006). Ces SNPs sont identifiés en compilant et en analysant les données de séquençage de l'ADN. Ils peuvent se situer aussi bien dans les régions codantes que non codantes du génome. Grâce à l'évolution constante des techniques de détection moléculaire, ces SNPs peuvent être révélés par différentes méthodes rapides, telles que la PCR, la spectrométrie de masse, les puces à ADN ou l'électrophorèse rapide (Kim & Misra, 2007).

Chez la gourde, quelques SNPs ont été détectés (Decker-Walters *et al.* 2001). Ces auteurs ont montré que cette variation suggérait une introgression avec d'autres espèces ou peut-être l'existence de deux espèces parmi les accessions de *Lagenaria sphaerica* analysées.

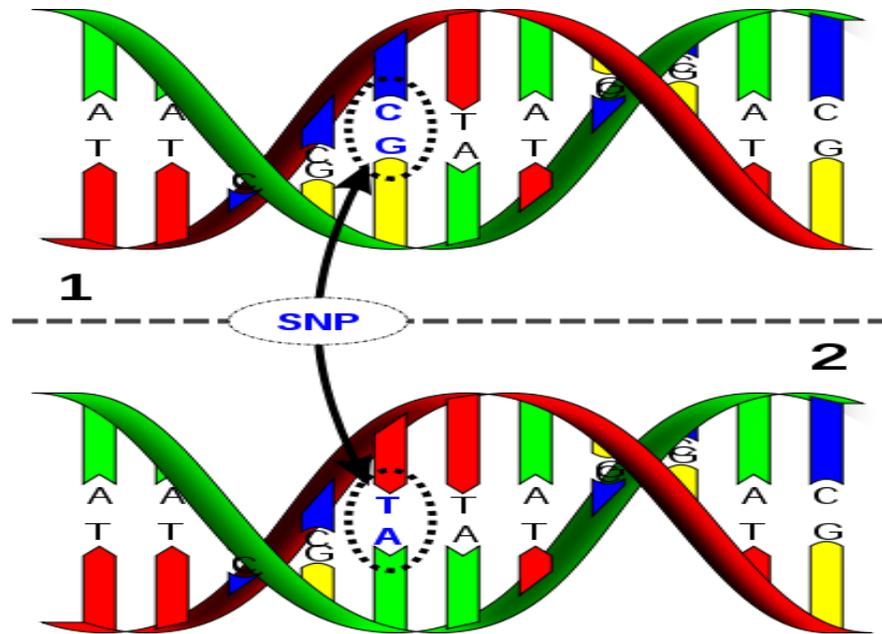


Figure 16 : Illustration d'une substitution ponctuelle, « snip » ou SNP entre les séquences de l'ADN 1 et 2 (Nickerson *et al.*, 1997)
La molécule d'ADN 1 diffère de la 2 par un seul nucléotide (polymorphisme C/T).

DEUXIÈME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. SITE D'ÉTUDE

Cette étude a été conduite sur une parcelle expérimentale de l'Université Jean Lorougnon GUÉDÉ de la ville de Daloa (Figure 17). Cette ville est située dans le Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. Daloa, chef-lieu de la région du Haut Sassandra, est situé à 140 Km de la capitale politique Yamoussoukro. La végétation qui était constituée de forêt dense a aujourd'hui disparu au profit des différentes cultures de rente (Sangaré *et al.*, 2009). Quant au relief, il est composé de sols de type ferrallitique. Par ailleurs, le département de Daloa est irrigué par le fleuve Sassandra et par son affluent la "Lobo" dont les ramifications le Dé et le Gore inondent l'ensemble de la région (Ligban *et al.*, 2009). Le climat de la région comporte quatre saisons dont la grande saison des pluies marquée par des orages d'avril à mi-juillet, la petite saison sèche, de mi-juillet à mi-septembre, la petite saison des pluies, de mi-septembre à novembre et la grande saison sèche, de décembre à mars (Assi, 2023). Les saisons sèches et humides alternent avec des températures variant de 24,65 ° C à 27,75 ° C en moyenne. Il tombe en moyenne 1317 mm de pluie par an (Yao *et al.*, 2020).

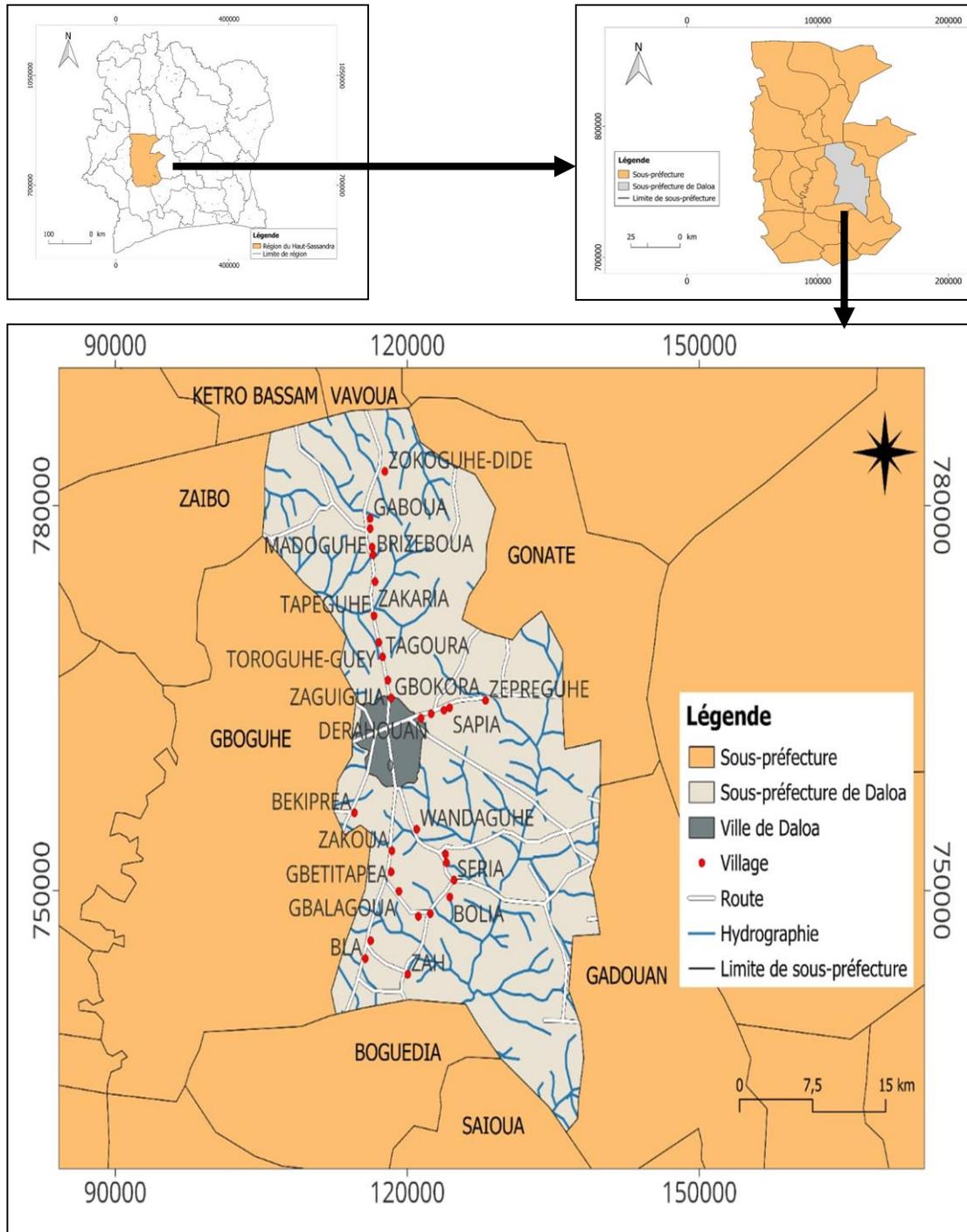


Figure 17: Carte présentant la ville de Daloa

2. CREATION ET CARACTERISATION PHÉNOTYPIQUE DE LIGNÉES MUTANTES APRÈS IRRADIATION AU RAYONNEMENT GAMMA

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel végétal

L'étude a été réalisée à partir d'un matériel végétal constitué de plants de maïs développées à partir de semences de la variété EV8728 irradiées aux rayonnements gamma aux doses 200 et 300 grays. Cette irradiation a été faite au laboratoire de « Genetic and Plant Breeding » de l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) à Seibersdorf en Autriche. La variété EV8728 (non irradiées), provient de la station du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) de Ferkéssédoudou.

Le choix de cette variété a été guidé par le fait que, lors des travaux préliminaires l'impliquant ainsi que d'autres variétés améliorées obtenues du CNRA telles que MAATRZB-SR-C1-W, DMR-ESR-W, GMRP18 et MDJ, elle a non seulement présenté une meilleure adaptation aux conditions pédoclimatiques du Nord, mais aussi a été la plus favorable à l'irradiation au rayonnement gamma.

2.1.2. Matériel technique

La réalisation des travaux a nécessité l'usage du matériel suivant :

- ✓ un tracteur pour la mise à nu et le labour de la parcelle ;
- ✓ un ruban-mètre de 50 m de long pour la délimitation de la parcelle ;
- ✓ un ruban-mètre métallique pour la mesure de la hauteur des plantes ;
- ✓ des dabas pour la réalisation des poquets de semis et le sarclage ;
- ✓ un système d'arrosage goutte à goutte pour un apport régulier d'eau ;
- ✓ un pied à coulisse pour la mesure du diamètre au collet des plantes ;
- ✓ des enveloppes (grandes et petites) pour l'isolement des épis et des panicules ;
- ✓ une balance électronique pour déterminer la masse des épis et des grains.

2.2. Méthodes

2.2.1. Création des lignées par sélection généalogique

Après irradiation des semences de la variété mère EV8728, celles-ci ont été semées. Les plantes M1 (première génération mutante) issues de ces semences ont été autofécondées pour obtenir les semences M2 (deuxième génération). Une sélection phénotypique a été conduite sur les plantes issues de ces semences M2 pour choisir les individus exhibant des caractères différents du témoin EV8728. Le processus de semis, suivi d'autofécondation-sélection a été répété jusqu'à l'obtention des lignées M5 (cinquième génération).

Sous la conduite d'un expert délégué par l'AIEA, une sélection phénotype supplémentaire a été réalisée parmi les lignées M5. Trois principaux critères ont guidé cette sélection :

- a) la couleur des graines : les différentes lignées ont d'abord été classifiées selon trois principales couleurs. Il s'agit des couleurs jaunes, rouge et blanche ;
- b) le rendement des lignées : seules les lignées ayant une bonne production ont été sélectionnées ;
- c) l'homogénéité des épis : elle a été un critère primordial pour cette sélection car celle-ci suppose la fixation de caractères engendrés par l'irradiation.

En ce qui concerne le processus d'autopollinisation, la Figure 18 présente quelques étapes de sa réalisation. Un mois après le semis, un contrôle quotidien est réalisé afin de détecter l'apparition des épis et l'émission de pollen. Dès l'apparition de l'épi, celui-ci est recouvert par une enveloppe pour éviter l'exposition des futures soies (stigmates) à du pollen étranger. Dès l'apparition d'une quantité importante de pollen sur la panicule, celle-ci est isolée par une grande enveloppe. Le lendemain, entre 9 h-11 h, le pollen est récolté et délicatement versé sur les soies de l'épi. L'épi est à nouveau recouvert par la grande enveloppe et poursuit son développement jusqu'à la récolte.



Figure 18: Quelques étapes de l'autopollinisation

A : Isolement de l'épi ; B : Isolement de la panicule ; C : Collecte de pollen ; D : Mise à nu des soies et pollinisation ; E : Épi enveloppé après pollinisation

2.2.2. Caractérisation phénotypique des lignées développées

2.2.2.1. Matériel végétal

La caractérisation phénotypique a porté sur 37 lignées mutantes essentiellement de couleur jaune, choisies dans la population M5 sélectionnée (Tableau III).

Tableau III: Liste des lignées sélectionnées pour la caractérisation

Numéro	Code	Lignée
1	T0	T0
2	S01	L1
3	S03	L2
4	S04	L3
5	S08	L4
6	S13	L5
7	S18	L6
8	S25	L7
9	S33	L8
10	S47	L9
11	S54	L10
12	S56	L11
13	S58	L12
14	S66	L13
15	S72	L14
16	S76B	L15
17	S77	L16
18	S80	L17
19	S82	L18
20	S90	L19
21	S91	L20
22	S102	L21
23	S112	L22
24	S115	L23
25	S126	L24
26	S131	L25
27	S133	L26
28	S135	L27
29	S145	L28
30	S148A	L29
31	S148B	L30
32	S159	L31
33	S168	L32
34	S180	L33
35	S189	L34
36	S193	L35
37	S195	L36
38	S197	L37

2.2.2.2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé pour la réalisation de cette étude était celui de Fisher avec trois blocs B1, B2 et B3 (Figure 19). La randomisation entre les lignées a été réalisée au moyen du logiciel CropStat 7.2. Les blocs, distantes de deux mètres, comptaient chacun 38 lignes (37 lignes pour les 37 lignées et une ligne pour le témoin) séparées les unes des autres de 0,8 mètres. Chaque ligne comportait 12 poquets distantes de 0,4 mètres. Au total, le dispositif comprenait 114 lignes de 4,5 mètres chacune.

2.2.2.3. Mise en place de la parcelle expérimentale

Avant l'installation du dispositif, la parcelle a d'abord été débarrassée de sa végétation, puis labourée (Figure 20A). Un piquetage a d'abord été réalisé suivant le dispositif expérimental. Ensuite, un système d'irrigation goutte à goutte a été installé (Figure 20B). Les poquets ont par la suite été creusés (Figure 20C) et le semis (Figure 20D) a été réalisé en déposant trois graines dans chaque poquet. Une cuillerée à café d'un mélange à volume égal de deux pesticides en poudre (VYTAL 3G et PYRICAL 5G) a été ajoutée dans chaque poquet pour protéger les graines contre les insectes et les mille-pattes du sol (Figure 20E). Enfin, les poquets ont été recouverts de terre.

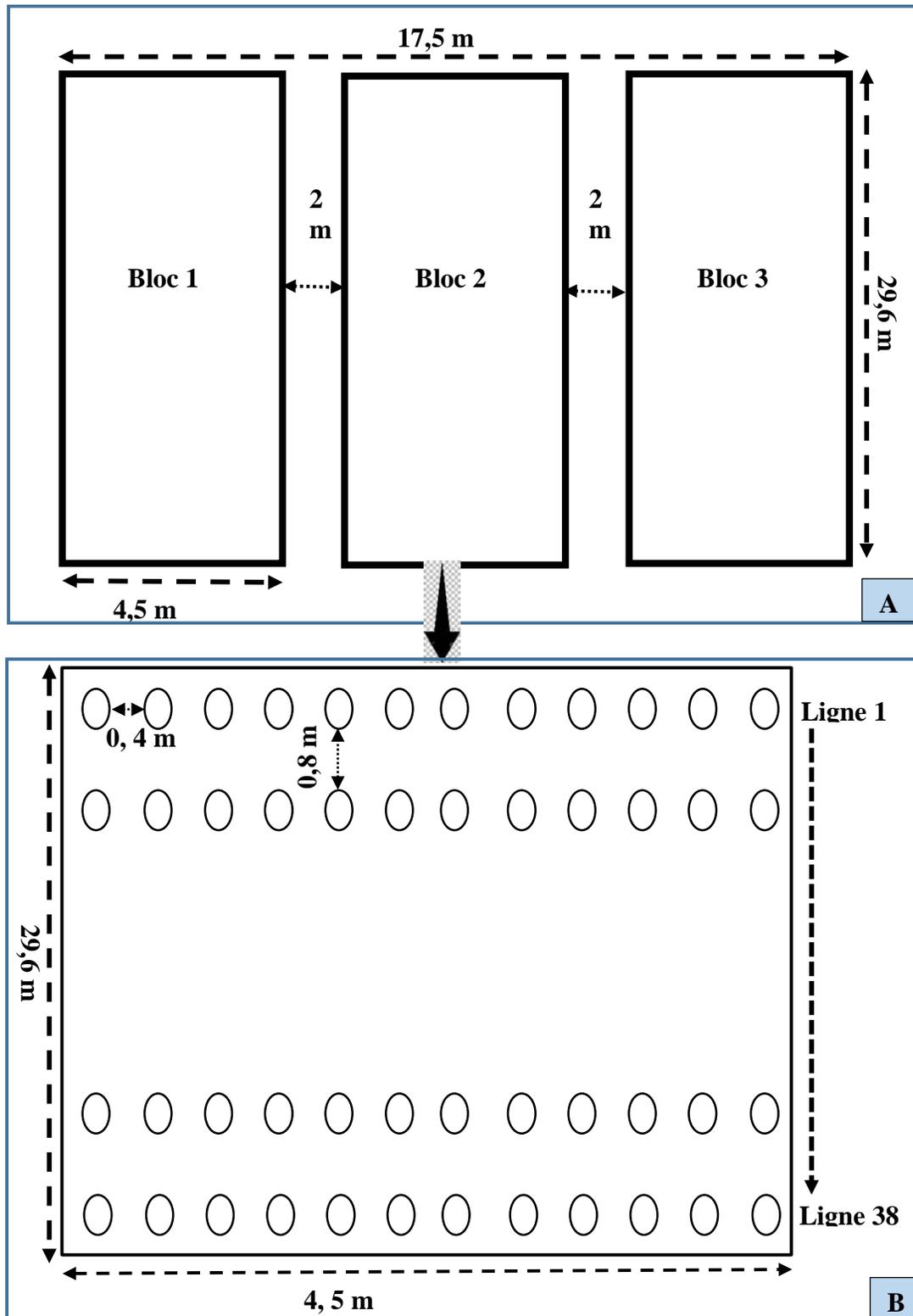


Figure 19: Schéma du dispositif expérimental

A : Disposition des blocs ; B : Schéma détaillé d'un bloc



Figure 20: Différentes étapes de la mise en place de la parcelle

A : Labour de la parcelle ; B : Système d'irrigation installé ; C : Réalisation des poquets ; D : Semis ; E : Insecticide déposé dans un poquet.

2.2.2.4. Entretien de la parcelle

Un entretien manuel régulier a permis de maintenir la parcelle et ses environs dans un état de propreté. L'insecticide KAPAAS 80 EC a été utilisé par pulvérisation hebdomadaire, à la dose de 500 mL/ha pour lutter contre la chenille légionnaire d'automne (*Spodoptera frugiperda*). La parcelle a bénéficié d'un apport régulier d'eau via un système d'irrigation goutte-à-goutte, mis en fonctionnement tous les deux jours pendant les tranches horaires les moins ensoleillées (7h-9h ou

17h-19h), en évitant les jours de précipitations. Deux semaines après semis, un démariage a été réalisé afin de laisser deux plantes par poquet.

2.2.2.5. Données collectées

La collecte des données a concerné 15 plantes prises au hasard sur chaque ligne, dans chaque répétition, soit 45 plants évalués par lignée. Quinze descripteurs du maïs homologués par l'IPGRI (1991) ont été utilisés. Il s'agit de :

❖ Paramètres phénologiques

- ✓ Délai de germination (D_{Ger}) : correspond au nombre de jours requis pour que 50 % des graines ensemencées germent ;
- ✓ Délai de floraison mâle (FoM) : c'est le temps (en jours) au bout duquel 50 % de la panicule produit du pollen ;
- ✓ Délai de floraison femelle (FoF) : c'est le temps (en jours) au bout duquel les soies apparaissent ;
- ✓ Ecart à la floraison (EcF) : c'est l'intervalle de temps (en jours) entre les floraisons mâle et femelle

❖ Paramètres de croissance et de développement

Les paramètres de croissance ont été déterminés à maturité et ont concerné :

- ✓ Diamètre au collet (Diam) : c'est la mesure en millimètre du diamètre de la plante au niveau du collet ;
- ✓ Hauteur de la plante (Haut) : indique la taille des plants en centimètres, depuis le niveau du sol jusqu'à la base de la feuille paniculaire ;
- ✓ Hauteur d'insertion de l'épi (HIE) : elle correspond à la mesure en centimètre du niveau d'insertion de l'épi depuis le sol jusqu'à son nœud d'insertion ;

Quant aux paramètres de croissance, ils ont essentiellement concerné :

- ✓ Taux de germination (T_{Ger}) : c'est le pourcentage des grains germés ;
- ✓ Nombre de feuilles (NbF) : il s'agit du nombre total de feuilles sur chaque plante ;

❖ Paramètres de rendement

Ils ont été mesurés après séchage au soleil, avec un taux d'humidité autour de 14 %. Ce sont :

- ✓ Longueur (LE) de l'épi : c'est la mesure en centimètre de la longueur l'épi débarrassé de sa spathe ;
- ✓ Diamètre (DE) de l'épi : c'est la mesure en millimètre du diamètre médian de l'épi débarrassé de sa spathe ;
- ✓ Masse de l'épi (ME) : c'est la mesure en grammes de l'épi une fois débarrassé de sa spathe ;
- ✓ Nombre de grains par épi (NGE) : c'est le nombre total de grains sur chaque épi ;
- ✓ Masse de cent grains (P100G) : indique le poids en grammes d'un échantillon de cent grains, prélevés sur chaque épi ;
- ✓ Rendement en grains de chaque lignée : il s'agit du rendement en grains calculé selon la formule ci-dessous :

$$\text{Rdt (T/ha)} = \frac{\text{Masse totale de la production (T)}}{\text{Surface cultivée (ha)}}$$

1

2.2.2.6. Analyses statistiques

Les données collectées sur le terrain ont d'abord été consignées dans un classeur avec Microsoft Excel 2016 et analysées au moyen des logiciels SPSS 22.0 et R 3.6.3.

Le logiciel statistique SPSS a été utilisé pour mener, d'une part, une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, avec la lignée comme variable indépendante. Cette analyse a permis de mettre en exergue l'effet ou non de la lignée sur le paramètre considéré en comparant les moyennes sous l'hypothèse nulle d'égalité de moyennes. En cas de différence significative (lorsque la valeur de la probabilité p associée aux tests statistiques est inférieure à 0,05), le test post-hoc de Student-Newman-Keuls, au seuil de 5 % a été réalisé. Ce test a pour objectif de classer les lignées en fonction du paramètre choisi. Ce logiciel, a d'autres part, servi à calculer les corrélations entre les différentes variables mesurées selon la méthode de Pearson afin d'apprécier le lien entre elles.

Le logiciel R a été utilisé pour conduire des analyses multivariées. La première analyse a consisté à réaliser une Analyse en Composantes Principales (ACP) afin de structurer la diversité des lignées

étudiées. Ainsi, le nombre de composantes à retenir pour cette analyse a été déterminé sur la base des valeurs propres. En effet, selon Shah *et al.* (2018), les axes dont les valeurs propres sont inférieures à 1 sont exclus.

La seconde analyse, une Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) a permis de réaliser le regroupement des lignées en différentes classes homogènes, sur la base de leur distance euclidienne.

3. EVALUATION DU POTENTIEL DE RÉSISTANCE À LA SÉCHERESSE DES LIGNÉES DÉVELOPPÉES

3.1. Matériel

3.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal (Figure 21), ayant servi à la réalisation de cette étude a été constitué de 37 lignées développées et utilisées lors de la précédente étude. La variété mère EV8728 (non irradiée) sensible à la sécheresse et deux variétés homologuées, Kabamanoj (T02) et VN10 (T03), résistantes à la sécheresse ont servi de témoins.



Figure 21: Plantes des lignées de maïs évaluées

3.1.2. Matériel technique

3.1.2.1. Matériel technique au champ

Le matériel utilisé au champ a été identique à celui ayant servi à mise en place du précédent essai.

3.1.2.2. Matériel technique au laboratoire

Le matériel suivant a été utilisé pour mener à bien cette étude :

- ✓ une balance électronique (Kern, Allemagne), pour déterminer les différentes masses ;
 - ✓ des mortiers, pour broyer les échantillons de feuilles ;
 - ✓ un bain-marie (GFL, Allemagne), pour l'incubation des broyats;
 - ✓ un vortex (Hms-350, France), pour homogénéiser les solutions ;
 - ✓ une centrifugeuse (Labfreez, Chine), pour la séparation des phases des différentes broyats
- ;

- ✓ un spectrophotomètre (Jenway, Royaume-Uni), pour la lecture des densités optiques ;
- ✓ un réfrigérateur (Liebherr, Allemagne) et un congélateur (Siemens, Allemagne) pour la conservation des échantillons.

3.2. Méthodes

3.2.1. Dispositif expérimental et mise en place de la parcelle

Une parcelle de 1463,76 m² (68,4 m X 21,5 m) a été utilisée pour réaliser cette étude. Le dispositif expérimental (Figure 22) était constitué de deux sous-parcelles A et B comportant chacune trois bloc randomisés. Chaque bloc comportait 37 lignées et 3 témoins dont un sensible et 2 résistants à la sécheresse. La sous-parcelle A a été soumise à un arrosage normal (depuis le semis jusqu'à la récolte). Quant à sous-parcelle B, elle a normalement été arrosée jusqu'à l'épiaison. En effet, l'irrigation a été interrompue à partir de cette étape jusqu'à la récolte. Cette parcelle a servi de parcelle test de résistance à la sécheresse. La randomisation de chaque bloc a encore été réalisée à l'aide du logiciel CropStat 7.2. Chaque bloc renfermait 40 lignes (37 lignes de lignées et 3 lignes de témoins) de 4,4 m chacune. L'espacement entre deux lignes était de 0,8 m. Chaque ligne comportait 12 poquets distants de 0,4 m. Au total 240 lignes ont été obtenues.

La mise en place de la parcelle, le semis ainsi que l'entretien des plantes ont été réalisés selon la méthodologie décrite dans la première partie.

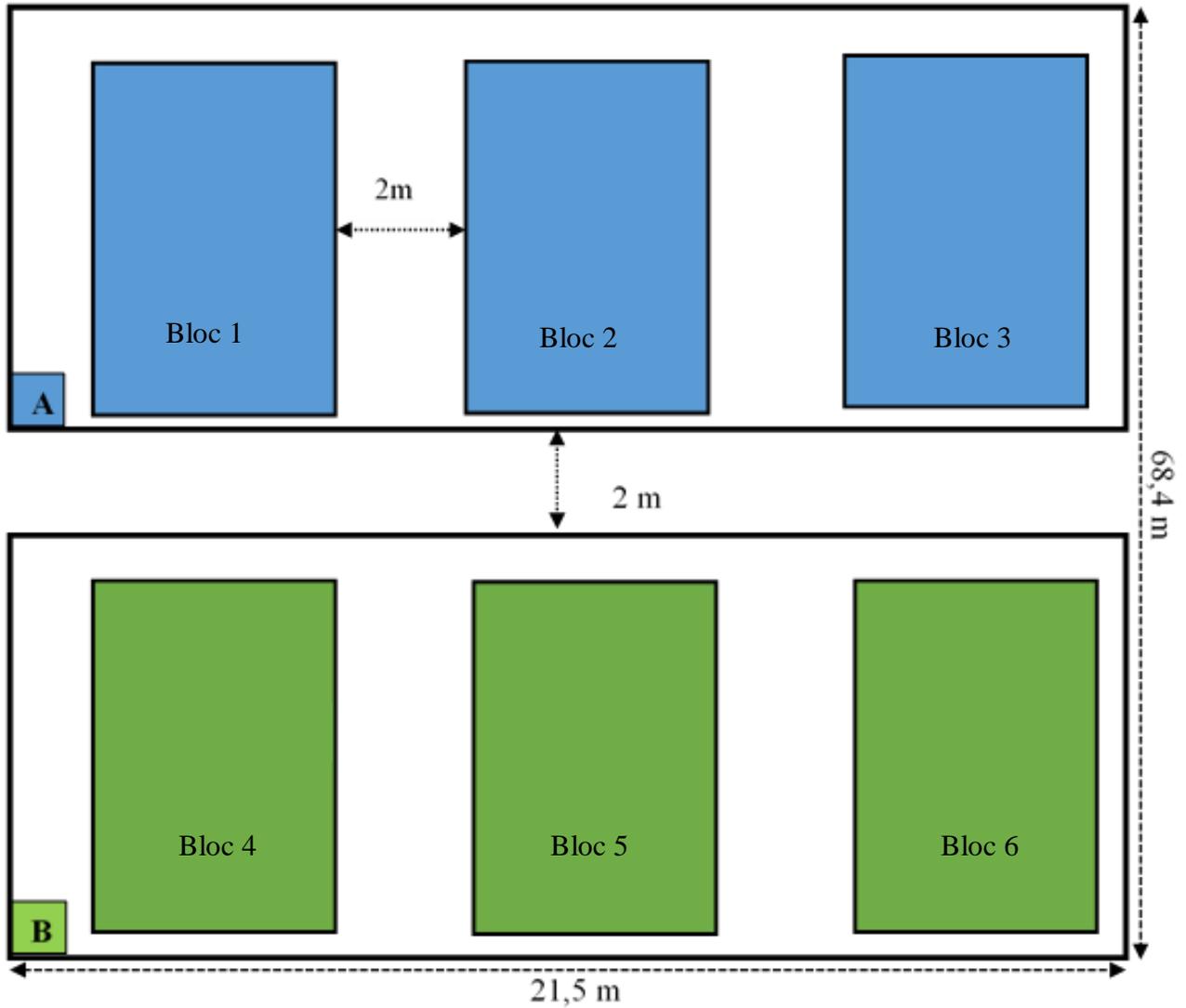


Figure 22: Schéma du dispositif expérimental

- A) Parcelle normalement arrosée ;
- B) Parcelle test de résistance à la sécheresse

3.2.3. Données collectées

Les données collectées ont porté des paramètres physiologiques, biochimiques et agronomiques. Les données physiologiques portaient essentiellement sur la densité et le degré d'ouverture des stomates. Les composés biochimiques ont concerné les pigments chlorophylliens (chlorophylles a, chlorophylles b et chlorophylles totales), les composés phénoliques, les sucres totaux, les protéines totales, la proline ainsi que deux composés enzymatiques (l'ascorbate peroxydase et la catalase).

3.2.3.1. Détermination de la densité et du degré d'ouverture des stomates

Deux semaines après l'interruption de l'irrigation au niveau la sous-parcelle B, des empreintes stomatiques des feuilles sous paniculaires de chaque lignée, ont été prélevées pour déterminer le nombre et le degré d'ouverture des stomates. Ce prélèvement a porté sur trois plantes par lignée, soit un total de 240 prélèvements pour les deux sous-parcelles.

Les empreintes des stomates ont été prises selon la méthode décrite par Koffi *et al.* (2014). La face supérieure de la feuille a d'abord été nettoyée à l'eau distillée et égouttée avec du papier buvard (Figure 23A et 23B). Une partie de cette face a été ensuite recouverte d'une mince couche de vernis à ongle incolore, tout en évitant de recouvrir la nervure centrale (Figure 23C et 23D). Après séchage de 15 à 20 minutes, le vernis est méticuleusement détaché à l'aide d'un ruban adhésif transparent, puis, collé sur une lame de microscope préalablement étiquetée (Figure 23E et 23F).

Au laboratoire, chaque lame a été observée au moyen d'un microscope optique (Olympus, Japon) muni d'une caméra numérique (Zeiss, Allemagne). Le nombre de stomates a été déterminée par comptage au grossissement 10X puis, ramené à l'unité de surface foliaire pour déterminer la densité (DS) des stomates (Djinet *et al.*, 2016).

La longueur et la largeur des stomates ont été mesurées au grossissement 40X à l'aide du logiciel ImageJ. Le degré d'ouverture des stomates qui correspond à la surface des pores des stomates (SPS) a été déterminée à partir de la formule de Kardel *et al.* (2010) :

$$\text{SPS} = (\text{L} * \text{W} * \pi) / 4 \quad (2)$$

L : longueur des stomates ouvertes en mm ; **W** : largeur des stomates ouvertes en mm ; $\pi = 3,14$

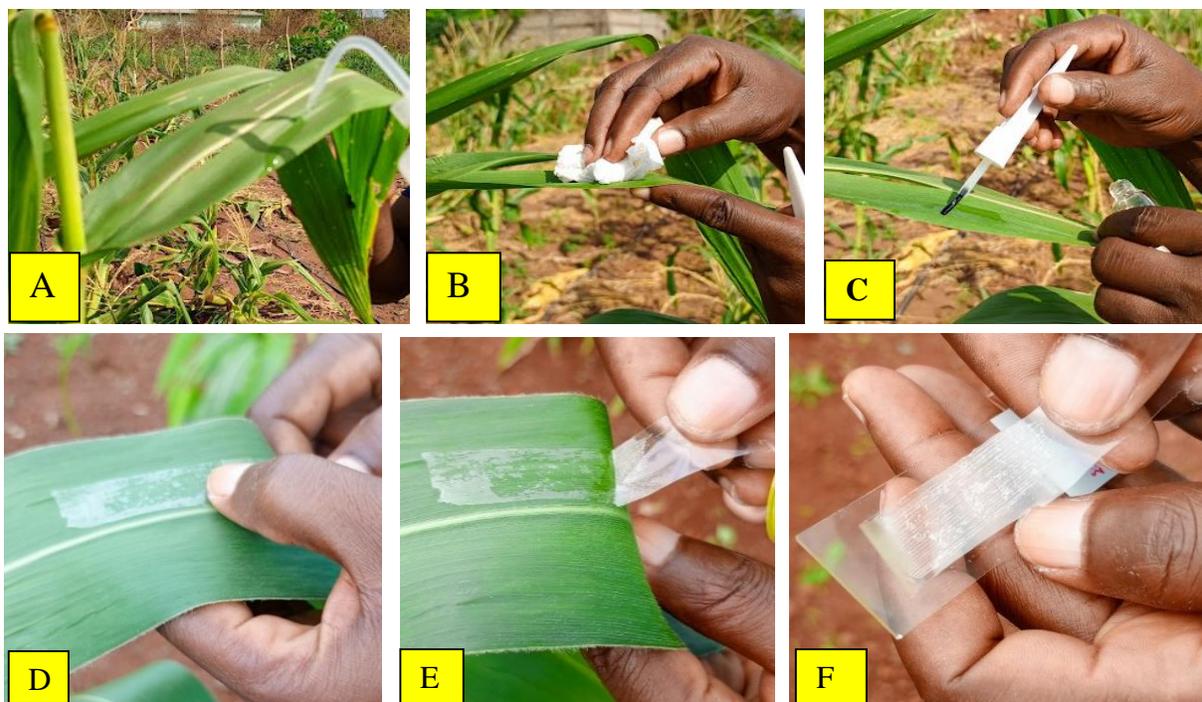


Figure 23: Quelques étapes du prélèvement d’empreintes stomatiques

Application d’eau sur la feuille ; B) Nettoyage de la feuille ; C) Application du vernis ; D) Collage du ruban adhésif ; E) Décollage du ruban adhésif ; F) Fixation du ruban sur la lame

3.2.3.2. Extraction et dosage des composés biochimiques

L’extraction et le dosage des composés biochimiques ont été réalisés sur des échantillons de feuilles paniculaires, prélevés par lignée, deux semaines après l’application du stress. Les échantillons prélevés ont été conservés à -30°C jusqu’à l’extraction des composés.

3.2.3.2.1. Extraction et dosage des pigments chlorophylliens

L’extraction et le dosage des pigments chlorophylliens de chaque lignée ont été réalisés selon la méthode de Lichtenthaler (1987). Une quantité de 0,1 g de feuilles fraîches a été mise dans un volume de 10 mL d’acétone 95 %. L’ensemble a été par la suite conservé à l’obscurité à 4°C pendant 48 heures. Un volume de 3 mL de cette solution a été ensuite prélevé pour la lecture de la densité optique (DO) à 663 nm et à 647 nm. Le calcul des différentes concentrations a été effectué selon les formules suivantes (Mackinney, 1941) :

$$\begin{aligned} \text{Chlorophylle a } (\mu\text{g/g MF}) &= 12,25 \cdot \text{DO663} - 2,79 \cdot \text{DO647} \cdot (V/1000 \cdot m) \\ \text{Chlorophylle b } (\mu\text{g/g MF}) &= 21,5 \cdot \text{DO647} - 5,10 \cdot \text{DO663} \cdot (V/1000 \cdot m) \\ \text{Chlorophylle totale } (\mu\text{g/g MF}) &= 7,15 \cdot \text{DO663} + 18,71 \cdot \text{DO647} \cdot (V/1000 \cdot m) \end{aligned}$$

3

V : volume de solution prélevée pour la lecture de DO (3 mL dans notre cas) m : masse de feuille utilisée (0,1 dans notre cas)

3.2.3.2.2. Extraction et dosage des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques pour chaque lignée a été réalisée selon la méthode de Kouakou (2009). Un échantillon de 500 mg de feuilles fraîches a été placé dans 10 mL de méthanol 96 %. Le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 10 h à 4 ° C. Après centrifugation à 5000 tours/min pendant 10 min, le surnageant obtenu a été filtré sur une membrane Millipore (0,45 µm) et a constitué l'extrait phénolique brut.

Le dosage des composés phénoliques a été réalisé selon la méthode de Singh (2000). Pour ce faire, 0,5 mL du réactif de folin-ciocalteux à 5 N ont été ajoutés à 0,9 mL d'eau distillée. Le tout a été additionné de 0,1 mL d'extrait phénolique. Le mélange a été agité, puis 1,5 mL de carbonate de sodium à 17 % ont été ajoutés. Après une incubation de 30 minutes à la température ambiante, la DO de chaque solution a été lue au spectrophotomètre à 765 nm. Le taux de phénols totaux a été déterminé à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations d'une solution mère d'acide gallique (200 µg/mL).

3.2.3.2.3. Extraction et dosage des sucres totaux

L'extraction des sucres totaux pour chaque lignée a été réalisée conformément au protocole d'extraction des composés phénoliques. Leur dosage a cependant été réalisé selon la méthode de Dubois *et al.* (1956) légèrement modifiée et adaptée à notre matériel végétal. Une solution d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) a permis de rompre les liaisons osidiques entre le D-glucose et le D-65 fructose mettant en solution tous les sucres présents qui ont été par la suite révélés par le phénol. Ainsi, 0,2 mL de phénol 5 % et 0,2 mL d'extrait phénolique ont été prélevés et placés dans un tube à essai. Le mélange réactionnel a été complété à 1 mL avec de l'eau distillée auquel, 1 mL d'acide sulfurique concentré (97 %) a été ajouté. La solution a été incubée pendant 5 min au bain bouillant, puis refroidie à l'obscurité pendant 30 min. L'intensité de la coloration produite par la réaction a été mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 490 nm contre un témoin ne contenant

pas de sucres. La densité optique a été convertie en quantité de sucres totaux, puis, exprimée en $\mu\text{g.g}^{-1}$ de feuilles fraîches grâce à une droite d'étalonnage construite à partir d'une solution mère de glucose.

3.2.3.2.4. Extraction et dosage des protéines

L'extraction et le dosage des protéines de chaque lignée ont été réalisés selon la méthode de Bradford (1976). L'extraction des protéines a été réalisée à froid (sur glace). À cet effet, 500 mg de feuilles fraîches ont été broyées en présence de 0,05 g de polivinylpyrrolidone (PVP). Le broyage a été réalisé en présence de 5 mL de solution tampon de phosphate de sodium 0,1 M à un pH de 7,9. Le broyat ainsi obtenu a été centrifugé à 10 000 tours/min pendant 30 min et le surnageant obtenu a constitué l'extrait brut.

Pour le dosage, 5,1 mL de milieu réactionnel ont été utilisés. Ce milieu contient 0,1 mL d'extrait brut et 5 mL de solution de bleu de coomassie. La préparation de la solution de bleu de Coomassie a été réalisée selon la méthode suivante : 0,2 g de bleu de Coomassie a été dissout dans 10 mL d'éthanol 95 % auxquels 20 mL d'acide orthophosphorique ont été ajoutés. Puis, le volume final a été ajusté à 200 mL avec de l'eau distillée. Le mélange réactionnel a été incubé dans un bain de glace à l'obscurité pendant 30 min. Ensuite, la teneur en protéine a été lue au spectrophotomètre à 595 nm. Dans le tube témoin, l'extrait a été remplacé par le tampon phosphate. La solution de Sérum Albumine Bovin (SAB) ($250 \mu\text{g.mL}^{-1}$) a servi de solution de protéine de référence et a permis de tracer une courbe d'étalonnage. Le taux de protéine a été déterminé à l'aide de cette courbe d'étalonnage, et a été exprimée en microgramme par gramme de matière fraîche ($\mu\text{g.g}^{-1}$ de feuille).

3.2.3.2.5. Extraction et dosage de la proline

L'extraction et le dosage de la proline de chaque lignée ont été réalisés selon la méthode de Dreir & Goring (1974). Ainsi, 100 mg de feuilles fraîches ont été écrasées dans un volume de 3 mL de méthanol à 40 %. L'ensemble a été chauffé au bain-marie à 85°C pendant 30 minutes. Après refroidissement dans de la glace fondante et centrifugation à 4000 tours pendant 10 mn, 1 mL du surnageant a été prélevé. Un mL d'acide acétique glacial, 25 mg de ninhydrine et 1 mL d'un mélange I [120 mL d'eau distillée, 300 mL d'acide acétique (CH_3COOH) et 80 mL d'acide phosphorique (H_3PO_4)] ont été ajoutés. L'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un vortex et porté à l'ébullition à 100°C , pendant 45 mn jusqu'au virage à la couleur rouge. Après refroidissement,

5 mL de toluène ont été ajoutés à la solution suivie d'agitation puis laissée au repos pendant 30 mn. Un volume de 3 mL du surnageant a été prélevé pour la lecture de la densité optique (DO) au spectrophotométrie à 528 nm. Le calcul de la concentration (C) de la proline a été effectué selon la formule suivante :

$$C \text{ (mM/g MF)} = DO / \epsilon * L$$

4

$\epsilon = 0,9986 \text{ mM.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$; L : Longueur du tube de spectrophotomètre en cm

3.2.3.2.6. Extraction et dosage des protéines enzymatiques

L'étude quantitative des enzymes a uniquement porté sur la catalase (CAT) et l'ascorbate peroxydase (APx) qui sont des enzymes antioxydantes.

3.2.3.2.6.1. Extraction des protéines enzymatiques

L'extraction des enzymes de chaque lignée a été réalisée selon la méthode de Kouakou (2003). Ainsi, 500 mg de feuilles fraîches ont été broyées dans 5 mL de tampon phosphate 0,1 M en présence de 0,05 g de PVP. Cela permet de fixer les composés phénoliques sur des substrats. Au cours du broyage, 0,1 mL d'une solution composée de 5 % de polyéthylène glycol 6000 (pour fixer les polyphénols), de 0,25 % de thiosulfate de sodium (pour protéger les sites enzymatiques), de 15 % de glycérol (pour la stabilité des systèmes enzymatiques), de 1 mM d'EDTA (pour éviter l'action inhibitrice des ions métalliques) et enfin de 15 mM de mercaptoéthanol (comme composés réducteurs pour prévenir les oxydations enzymatiques) ont été utilisés. Après centrifugation, à 5000 tours/min pendant 20 min, le surnageant obtenu a constitué l'extrait brut d'enzymes.

3.2.3.2.6.2. Dosage de l'ascorbate peroxydase et de la catalase

Les activités de la catalase et de l'ascorbate peroxydase de chaque lignée de maïs ont été déterminées selon la méthode de Zhou *et al.* (2003). Celle-ci a été modifiée et adaptée à notre matériel végétal. Le dosage de l'ascorbate peroxydase a été réalisé avec 3 mL de volume réactionnel comprenant 0,1 mL d'extrait enzymatique et 2,9 mL de solution ascorbique. L'activité de l'ascorbate peroxydase a été lue au spectrophotomètre à 290 nm contre un blanc réalisé avec le tampon tris-HCl. L'activité a été exprimée en mol/min/g de matière fraîche.

Le dosage de la catalase a été réalisé avec le même milieu réactionnel dont 0,1 mL d'extrait enzymatique, 1 mL de H₂O₂, et 1,9 mL de tampon Tris-HCl. Un essai témoin a été réalisé où l'eau

oxygénée (H₂O₂) a été remplacée par le tampon Tris-HCl. L'activité de la catalase a été lue au spectrophotomètre à 240 nm et exprimée en mmol/min/g de matière fraîche. Le coefficient d'extinction molaire du produit formé à la longueur d'onde de 240 nm est égal à 36.10⁻⁶ M⁻¹cm⁻¹.

3.2.3.3. Détermination des paramètres agronomiques

Sur le plan agronomique, les mesures ont essentiellement concerné le taux de senescence des feuilles (TSF) et le rendement en grains des lignées (Rend). Le taux de senescence des feuilles représentait le pourcentage de feuilles mortes des plantes de maïs. Celui-ci a été déterminé suivant une échelle allant de 1 à 10. Les lignées ayant la plus faible quantité de feuilles mortes ont été codifiées 1 tandis que le code 10 a été attribué aux lignées avec le plus grand nombre de feuilles mortes. Le rendement en grains des lignées a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Rend (T/ha)} = \frac{\text{Masse totale de la production (T)}}{\text{Surface cultivée (ha)}}$$

5

3.2.4. Analyses statistiques

Les données collectées ont été analysées au moyen des logiciels R.3.6.3 et SPSS 22.0. Le logiciel SPSS a servi à réaliser une analyse de variance (ANOVA). En cas de significativité du test ANOVA, le test de Student-Newman-Keuls utilisé en post ANOVA a été réalisé au seuil de 5 % pour la classification des lignées en fonction du paramètre considéré. Par ailleurs, afin de tester l'effet du stress sur les paramètres considérés, ledit logiciel a servi à réaliser le test *t* de Student au seuil de probabilité 5 %. Le logiciel R a par ailleurs été utilisé pour une analyse en composantes principales (ACP) en utilisant les descripteurs les plus discriminants et les facteurs générés ont permis de structurer la diversité des lignées étudiées.

4. EVALUATION DE LA VARIABILITE GENETIQUE DES LIGNEES POTENTIELLEMENT RESISTANTES A L'AIDE DE MARQUEURS ISSR

4.1. Matériel

4.1.1. Matériel végétal

Pour la réalisation de cette étude, le matériel végétal utilisé a été constitué de jeunes feuilles prélevées sur des plantes des lignées potentiellement résistantes à la sécheresse, sélectionnées lors du précédent chapitre. La variété mère EV8728 a servi de témoin.

4.1.2. Matériel technique

Cette étude a été possible grâce à un ensemble de matériel dont l'essentiel est présenté par le tableau IV.

Tableau IV: Matériel technique au laboratoire

N°	Matériel	Rôle
1	Verrerie classique de laboratoire	Support pour les expériences
2	Lyophilisateur (Labfreez, Chine)	Déshydratation des échantillons de feuilles
3	Balance électrique (Kern, Allemagne)	Réaliser des pesées
4	Tissue Lyser (Qiagen, Pays-Bas)	Broyage des feuilles
5	Micropipettes (Eppendorf, Allemagne)	Prélèvement avec précision des solutions
6	Bain-marie (GFL, Allemagne)	Incuber les extraits
7	Vortex (IKA, Suède)	Homogénéiser les solutions
8	Etuve (Memmert, Allemagne)	Séchage du matériel
9	Centrifugeuse (Labfreez, Chine)	Séparer les constituants des extraits
10	NanoDrop (Thermo Scientific, USA)	Quantifier l'ADN
11	Congélateur (Siemens, Allemagne), réfrigérateur (Liebherr, Allemagne)	Conserver les divers extraits et produits
12	Dispositif d'électrophorèse (Consort, Chine)	Migration et séparation des bandes d'ADN
13	Plaque magnétique chauffante (IKA, Suède)	Préparer les solutions
14	Trans-illuminateur photographique (Syngène, Canada)	Visualiser et photographier les bandes d'ADN
15	Thermocycleur (Labnet International USA)	Amplifier les fragments d'ADN
16	Distillateur (GFL, Allemagne)	Distiller l'eau

4.2. Méthodes

4.2.1. Echantillonnage

Un mois après le semis, des échantillons de feuilles ont été prélevés de manière aléatoire sur 10 plantes par lignée. Chaque échantillon prélevé a été immédiatement placé dans une enveloppe et conservé dans de la glace. L'ensemble des échantillons a ensuite été transporté au laboratoire et stocké au congélateur à -80°C . Deux semaines plus tard, ces échantillons ont été lyophilisés pendant 48 heures. Quelques étapes de cette phase sont présentées à la Figure 24.

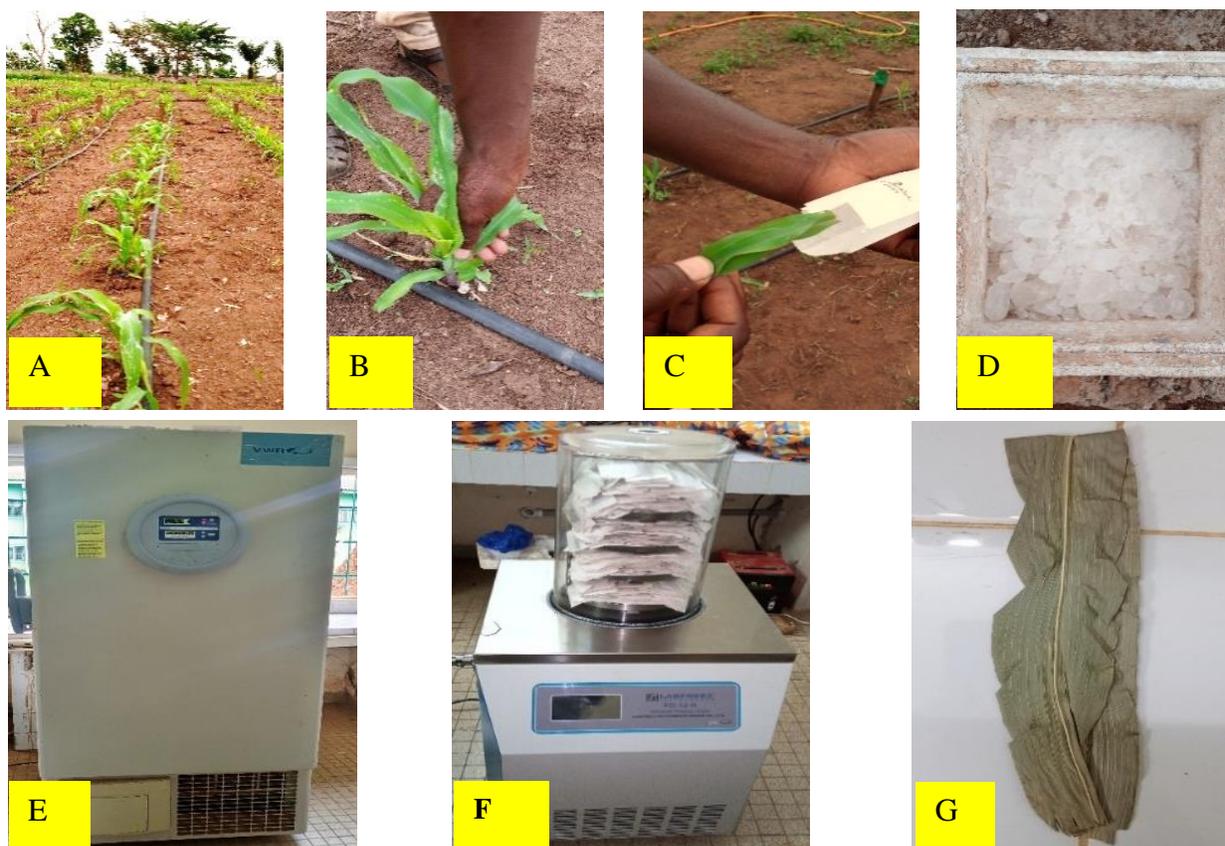


Figure 24: Quelques étapes de l'échantillonnage

A : Plants de maïs bons pour prélèvement ; B : Prélèvement d'échantillon de feuille ; C : Mise d'une feuille prélevée dans une enveloppe ; D : Conservation au champ des échantillons dans de la glace pilée ; E : Conservation des échantillons au laboratoire à -80°C ; F : Lyophilisation des échantillons ; G : Feuille lyophilisée.

4.2.2. Extraction d'ADN

L'extraction de l'ADN génomique a porté sur 5 plantes par lignée. Elle a été réalisée conformément au protocole du kit Promega avec de légères modifications. Ainsi, 50 mg de feuilles lyophilisées ont été écrasées à l'aide d'un broyeur automatique (Tissue Lyser II) dans des tubes Eppendorfs de 2 mL. Ensuite, 600 µL d'une solution de lyse des noyaux cellulaires ont été ajoutés. Après mélange au vortex, une incubation a été réalisée au bain-marie à 65 ° C pendant 15 minutes. Suite à un refroidissement pendant 5 minutes à température ambiante, 200 µL d'une solution de précipitation de protéines ont été ajoutés. L'ensemble a vigoureusement été vortexé puis centrifugé à 15 000 G pendant 3 minutes. Un volume de 400 µL du surnageant a délicatement été transféré dans des microtubes de 1,5 mL contenant chacun 600 µL d'isopropanol. Le contenu de chaque tube a délicatement été agité manuellement par renversement-redressement des tubes jusqu'à ce que la pelote d'ADN soit visible. Une deuxième centrifugation a été réalisée à 15 000 G pendant 1 minute. Le surnageant a été éliminé, et le culot représentant l'ADN a été soigneusement lavé (par renversement-redressement) avec 600 µL d'éthanol 70 %. Puis, une troisième centrifugation sous le même programme que la seconde a été réalisée. Après cette centrifugation, le surnageant a ensuite été éliminé avec précaution. Les tubes ont ensuite été séchés à l'étuve pendant 15 minutes à une température de 50 ° C. Une fois refroidis pendant 5 minutes sur le plan de travail, 50 µL d'une solution de réhydratation ont été ajoutés dans chaque tube. L'ensemble a alors été laissé sur la paillasse toute la nuit afin de permettre la réhydratation de l'ADN obtenu. Le lendemain matin, une digestion de l'ARN contenu dans chaque solution d'ADN a été réalisée par ajout de 2 µL d'une solution de RNase. L'ensemble a été incubé à 37 ° C pendant 30 minutes au bain-marie. Après refroidissement à la température ambiante, les extraits ont été stockés à 4 ° C au réfrigérateur jusqu'à leur dosage le lendemain. Quelques étapes de l'extraction de l'ADN sont présentées sur la Figure 25.

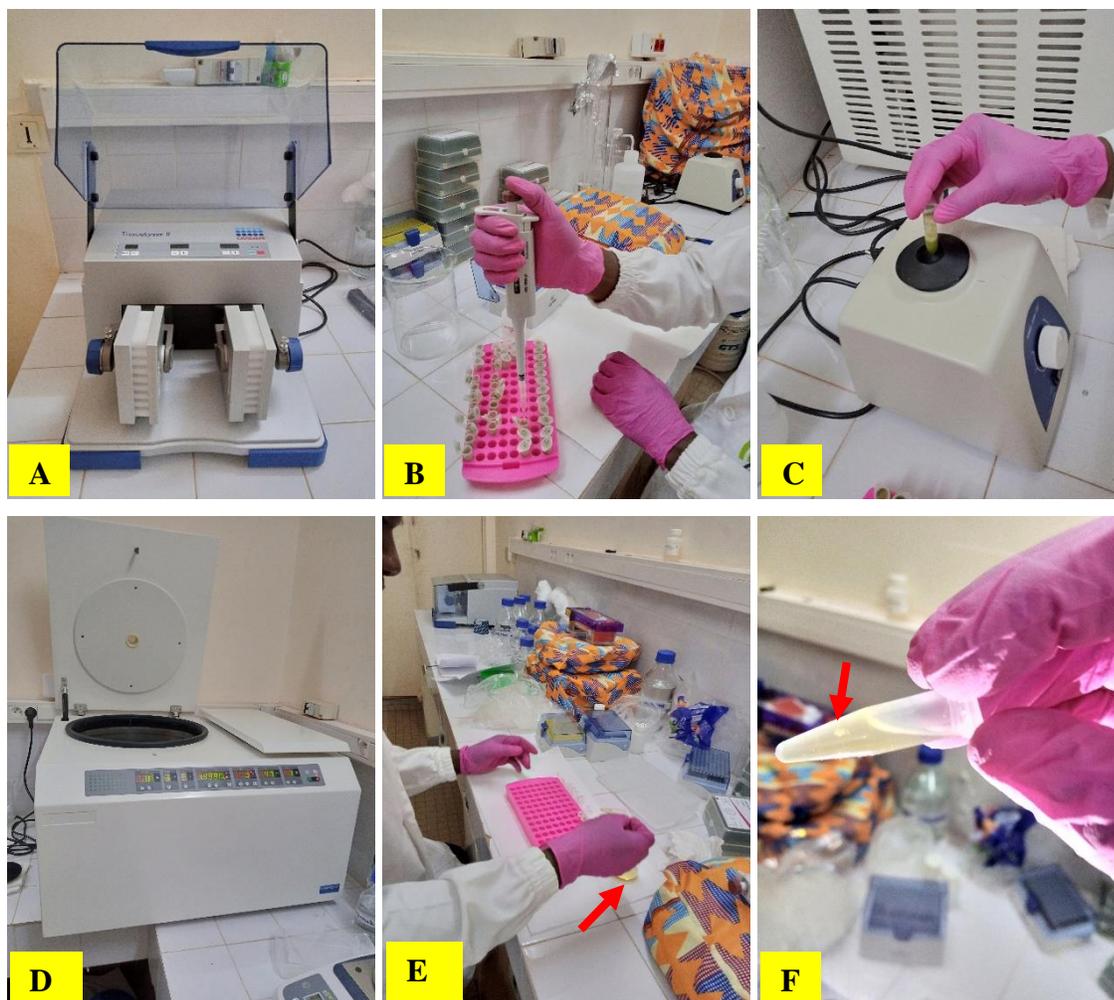


Figure 25: Quelques étapes de l'extraction de l'ADN

A : Mise des échantillons au Tissue Lyser pour broyage ; B : Ajout de solution de lyse aux broyats ; C : Mélange des échantillons par vortex ; D : Centrifugation ; E : Élimination des surnageants ; F : Précipitation de l'ADN

4.2.3. Evaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN extrait

La concentration (ng/ μ l) et la pureté des différents extraits d'ADN ont été déterminées au moyen d'un NanoDrop (Figure 26). En outre, une évaluation de la quantité et de la qualité de l'ADN a été aussi réalisée sur gel d'agarose 1 %. Pour ce faire, 4 μ L de chaque extrait d'ADN complétés de 6 μ L de bleu de bromo-phénol ont été déposés dans des puits sur un gel d'agarose à 1 %. Une électrophorèse a été ensuite réalisée pendant 30 minutes à 100 Volts dans du tampon TBE 0,5 X. Le gel a finalement été visualisé et photographié au trans-illuminateur à UV.

polymérisation utilisé consistait en une première étape de dénaturation initiale pendant 2 minutes à 94 ° C ; suivie d'une seconde étape de 35 cycles comportant chacun une dénaturation à 94 ° C pendant 30 secondes, une hybridation à la température d'hybridation de l'amorce choisie pendant 45 secondes, une élongation pendant 2 minutes à 72 ° C et enfin une dernière étape d'élongation finale pendant 5 minutes à 72 ° C.

La dénaturation est la séparation des brins de l'ADN par chauffage (94 ° C) qui cause la rupture des liaisons hydrogènes. L'hybridation consiste en la fixation des amorces aux sites complémentaires par refroidissement rapide. L'élongation est la synthèse de nouveaux fragments d'ADN grâce à la Taq polymérase.

4.2.4.2. Choix des amorces

Pour réaliser la PCR, 10 amorces ISSR ont été sélectionnées la base de leur bon profil électrophorétique et le grand pourcentage de polymorphisme généré lors de travaux antérieurs (Ali *et al.*, 2011 ; Mahamoud & El-Mansy, 2012 ; Konan *et al.*, 2020). Le tableau V présente les caractéristiques des amorces utilisées.

Tableau V: Caractéristiques des amorces utilisées

N°	Amorces	Séquences	T° d'hybridation
1	ISSR 7	5'-GTGGTGGTGGTGYC-3'	57,9
2	ISSR 857	5'-ACACACACACACACACCG-3'	57,7
3	ISSR Dat	5'-GAGAGAGAGAGAGAAC-3'	44
4	ISSR N5	5'-GAAGAAGAAGAAGAARC-3'	42,7
5	ISSR 17899A	5'-CACACACACACAAG-3'	43,3
6	ISSR 807	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGT-3'	47
7	ISSR 887	5'-GCATCTTCTCTCTCTCTC-3'	47,9
8	ISSR 17899B	5'-GGCAACAACAACAACAA-3'	48,8
9	ISSR 1	5'-CACTCCTCCTCCTCCTCC-3'	56,2
10	ISSR 844A	5'-GCCACACACACACAAC-3'	51,5

4.2.4.4. Migration des fragments après amplification

Les produits de PCR ou produits d'amplification ont fait l'objet de migration dans une cuve à électrophorèse horizontale sur un gel d'agarose à 2 % (2 g d'agarose pour 100 mL de tampon TBE 0,5 X) auquel, 2 µL de bromure d'éthidium (BET) ont été ajoutés.

Cette technique repose sur la séparation des fragments d'ADN en fonction de leur taille sous l'action d'une tension électrique. Pour ce faire, le contenu (produit PCR ou amplicon) de chaque tube a été déposé dans chaque puits du gel à l'aide d'une micropipette ajustable. La migration a ensuite été réalisée sous une tension électrique de 100 volts pendant 1 heure dans un tampon TBE 0,5 X.

4.2.4.5. Révélation des fragments amplifiés

Le gel a été placé dans le trans-illuminateur photographique sous lumière ultraviolet (UV), après migration, pour la révélation ainsi que la photographie des bandes d'ADN amplifiées. Cette révélation a été possible grâce au bromure d'éthidium (BET) qui avait été ajouté au gel d'agarose. Le BET est un agent chimique qui s'intercale entre les bases azotées de l'ADN. Sous l'éclairage UV, le BET incorporé à l'ADN devient fluorescent, permettant ainsi de visualiser les fragments d'ADN amplifiés par PCR qui sont présents dans le gel.

4.2.4.6. Lecture des gels issus de l'électrophorèse

La lecture visuelle des gels a permis de réaliser une matrice binaire de valeurs 0/1 traduisant respectivement l'absence/présence de bandes à chaque locus considéré. Seules les bandes claires et parfaitement visibles ont été considérées comme marqueurs ISSR.

4.3. Analyse statistique

Les logiciels GenALEX 6.5, FreeTree et TreeView ont servi à analyser les données moléculaires recueillies. Le nombre total de bandes et le taux de polymorphisme ont été déterminés pour chacune des amorces utilisées.

La diversité génétique au sein des lignées étudiées a été estimée via le logiciel GenALEX. En outre, ce logiciel a permis de réaliser une analyse multivariée. Cette analyse a consisté en une Analyse en Coordonnées Principales (PCoA) et a permis de visualiser les tendances de la distance génétique entre les lignées étudiées. Cette PCoA a été basée sur les corrélations pour permettre la transformation des variables ou marqueurs ISSR en axes ou variables synthétiques. Elle a également permis de définir les marqueurs qui contribuent activement à la description de la structuration de la variabilité et d'obtenir une projection des lignées en fonction de leur proximité. Enfin, la matrice binaire réalisée a été analysée avec le logiciel FreeTree pour générer une matrice de distance génétique présentant les coefficients de dissemblance (dissimilarité) de Jaccard entre les différentes lignées selon les données des marqueurs ISSR.

Une analyse typologique a été ensuite réalisée en utilisant la méthode du neighbor-joining avec le logiciel FreeTree. Celle-ci a permis d'élaborer, grâce au programme TreeView, un dendrogramme mettant en relief la relation entre les lignées étudiées.

TROISIÈME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. CARACTERISTIQUES PHÉNOTYPIQUE DE LIGNÉES MUTANTES CRÉÉES APRÈS IRRADIATION AU RAYONNEMENT GAMMA

1.1. Résultats

1.1.1. Lignées mutantes produites

Suite à l'irradiation au rayonnement de la variété EV8728 et de la sélection généalogique pendant 5 générations, 264 lignées mutantes de maïs ont été obtenues. Après sélection, dans cette population de lignées, sous la supervision de l'expert de l'AIEA, 61 lignées ont été retenues dont 40 de couleur jaune, 15 de couleur rouge et 6 de couleur blanche. La Figure 27 présente quelques épis des lignées retenues.



Figure 27: Quelques épis des lignées de la génération M5 sélectionnées

1.1.2. Caractérisation phénotypique des lignées retenues

1.1.2.1. Variation des caractères phénologiques

Le Tableau VI expose les moyennes des caractères phénologiques en fonction des lignées étudiées. L'analyse de ce tableau a indiqué un effet très significatif (p -Value < 0,001) de la lignée sur les traits, à l'exception du délai de germination.

Les délais de floraison mâle et femelle ont respectivement varié de 55,76 à 67,52 jours et de 55,10 à 67,28 jours après semis. La lignée L21 a été la plus précoce avec des délais de floraison mâle et femelle respectifs de 55,76 et 55,10 jours tandis que la lignée L34 a été la plus tardive car ayant libéré du pollen au bout 67,52 jours et émis des soies 67,28 jours après semis. La lignée L21 a été plus précoce que le témoin T0 (EV8728) qui a présenté des délais de floraison mâles et femelle respectifs de 56,03 et 55,72 jours.

L'écart à la floraison (mâle et femelle) a été faible dans l'ensemble de la population de maïs étudiée car ayant varié entre 0,18 (L9) et 4 jours (L30).

Tableau VI: Valeurs moyennes des paramètres phénologiques chez les lignées étudiées

LIGNEES	Dger (JAS)	FoM (JAS)	FoF (JAS)	EcF (JAS)
L1	5,33±0,5 ^a	56,65±1,5 ^b	55,77±1,6 ^b	0,87±1,0 ^{bc}
L2	5,33±0,5 ^a	57,35±2,4 ^c	56,41±2,2 ^{bc}	0,94±1,0 ^c
L3	5±0,0 ^a	56,81±2,2 ^b	55,37±1,4 ^{ab}	1,43±1,1 ^e
L4	5,33±0,5 ^a	63,04±2,3 ^m	62,29±3,0 ^m	0,75±1,0 ^b
L5	5,33±0,5 ^a	61,84±4,6 ^j	60,56±3,7 ^k	1,28±1,4 ^{de}
L6	5,33±0,5 ^a	62,29±1,3 ^l	59,65±1,3 ⁱ	2,63±1,6 ^m
L7	5,33±0,5 ^a	60±3,0 ^h	58,43±1,6 ^f	1,56±1,4 ^f
L8	5,33±0,5 ^a	57,76±1,0 ^d	56,62±1,4 ^{bc}	1,14±0,6 ^{cd}
L9	5,33±0,5 ^a	60,68±1,4 ⁱ	60,5±1,4 ^k	0,18±0,3 ^a
L10	5,66±1,1 ^a	60,26±2,7 ^h	58±3,6 ^{ef}	2,26±1,4 ^k
L11	5,33±0,5 ^a	59,97±0,3 ^h	59,47±0,6 ^h	0,5±0,5 ^b
L12	5,33±0,5 ^a	57,41±1,9 ^c	57±2 ^c	0,41±0,6 ^{ab}
L13	5,33±0,5 ^a	60,27±1,9 ^h	59,80±2,1 ⁱ	0,47±0,9 ^b
L14	5,33±0,5 ^a	59,82±1,3 ^h	58,26±1,6 ^f	1,55±0,9 ^f
L15	5,33±0,5 ^a	56,64±1,1 ^b	56,02±0,7 ^b	0,62±0,8 ^b
L16	5,33±0,5 ^a	57,48±1,5 ^c	55,6±1,6 ^b	1,88±1,1 ^g
L17	5,66±0,5 ^a	61,09±1,0 ^{ij}	60,28±0,8 ^j	0,81±0,9 ^b
L18	5,33±0,5 ^a	60,70±2,3 ⁱ	58,81±1,2 ^g	1,88±1,5 ^g
L19	5,33±0,5 ^a	58,46±1,5 ^e	57,16±1,5 ^d	1,30±1,2 ^{de}
L20	5,33±0,5 ^a	56,92±0,8 ^{bc}	56,51±0,9 ^{bc}	0,40±0,5 ^{ab}

L21	5,33±0,5 ^a	55,76±1,1^a	55,10±1,1^a	0,66±0,8 ^b
L22	5,33±0,5 ^a	59,62±1,9 ^g	59,17±1,9 ^{gh}	0,45±0,9 ^b
L23	5,33±0,5 ^a	57,47±2,0 ^c	56,52±1,6 ^{bc}	0,95±0,9 ^c
L24	5,66±0,5 ^a	57,69±1,6 ^d	56,59±1,5 ^{bc}	1,09±1,0 ^{cd}
L25	5,66±0,5 ^a	60,3±2,1 ^{hi}	59,6±1,5 ⁱ	0,7±1,0 ^b
L26	5,66±0,5 ^a	56,81±1,8 ^b	55,72±2,0 ^b	1,09±0,9 ^{cd}
L27	6±0,0 ^a	60,85±1,2 ^{ij}	58,75±1,2 ^g	2,09±1,9 ⁱ
L28	5,33±0,5 ^a	61,05±1,5 ^{ij}	57,94±1,3 ^{ef}	3,10±1,5 ⁿ
L29	5,33±0,5 ^a	58,58±1,9 ^f	57,83±1,2 ^e	0,75±0,8 ^b
L30	5,33±0,5 ^a	62,05±0,7 ^k	58,05±1,0 ^{ef}	4±0,9^o
L31	5,66±0,5 ^a	58±2,1 ^d	55,78±1,6 ^b	2,21±1,4 ^j
L32	6±1,0 ^a	62,95±1,2 ^m	60,83±1,2 ^l	2,12±1,1 ⁱ
L33	6,33±0,5 ^a	60,5±1,3 ⁱ	58±1,0 ^{e^f}	2,5±1,4 ^l
L34	5,66±1,1 ^a	67,52±2,1^o	67,28±2,2^o	0,24±0,7^a
L35	5,66±0,5 ^a	61±1,5 ^{ij}	59,8±2,0 ⁱ	1,2±1,3 ^d
L36	6±1,0 ^a	57,77±1,5 ^d	56,58±1,9 ^{bc}	1,19±1,2 ^d
L37	5,66±1,1 ^a	65,48±2,5 ⁿ	63,51±3,3 ⁿ	1,97±1,1 ^h
T0	5,08±0,2 ^a	56,03±1,8 ^{ab}	55,72±1,3 ^b	0,31±0,8 ^a
F	0,66	60,31	54,06	16,37
P	0,918	< 0,001	< 0,001	< 0,001

DGer : délai de germination ; _{ECF} : Ecart à la floraison ; FoF : Floraison femelle ; FoM : Floraison mâle ; JAS : Jours après semis ; F : constante ou variable de test de Fisher ; p : probabilité associée au test d'ANOVA un facteur ; les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (Test Student-Newman-Keuls, à 5 %).

1.1.2.2. Variation des paramètres de croissance et de développement

L'évolution des valeurs moyennes des paramètres de croissance et de développement mesurés pour l'ensemble des lignées de maïs étudiées est présentée par le Tableau VII. Les résultats ont montré une variation hautement significative ($p < 0,001$) pour chacun des paramètres étudiés.

Concernant les paramètres de développement, toutes les lignées ont d'une part, présenté un bon pouvoir germinatif avec des taux de germination supérieurs à 50 %. Avec 52,77 %, la lignée L24 a enregistré le plus faible taux ; tandis que les lignées L1, L2, L3, L10, L13, L15, L32, L19 et L36 ont donné les taux les plus élevés (supérieurs à 93 %). Le taux de germination enregistré chez le témoin T0 est de 89,58 %.

D'autre part, au niveau du nombre de feuilles, la plus faible valeur (16,8) a été observé chez la lignée L20, et la plus forte valeur (21,93), chez la lignée L35. Le témoin T0 a présenté en moyenne 18,41 feuilles par plante.

Au titre des paramètres de croissance, pour le diamètre au collet, la lignée L19 a présenté la plus faible valeur (12,18 mm), alors que la plus grande valeur (19,81 mm) a été observée chez la lignée L35. Dans l'ensemble, dix lignées ont présenté des diamètres au collet supérieurs à celui du témoin T0 (16,61 mm). Ce sont les lignées L5, L13, L15, L18, L22, L29, L31, L32, L33, L35 avec des valeurs moyennes comprises entre 16,83 et 19,81 mm.

Considérant la hauteur des plantes et d'insertion de l'épi, la lignée L36 a montré les valeurs les plus faibles, avec respectivement 98,93 et 40,2 cm en moyenne. Les plus grandes plantes (196 cm) avec les plus hauts niveaux d'insertion d'épis (102,13 cm) ont été observés chez la lignée L35. De plus, la lignée L13 a affiché un haut niveau d'insertion d'épi avec 101,33 cm. Globalement, neuf lignées ont présenté des plantes plus grandes que celles du témoin (165,47 cm). Il s'agissait des lignées L5 (169,6 cm), L24 (172,13 cm), L15 (174,27 cm), L28 (176,57 cm), L13 (177,8 cm), L29 (178,25 cm), L26 (188,4 cm), L31(190,13 cm) et L35 (196,53 cm). De même, les lignées L4 (85,07), L15(92,4), L24(95,8 cm), L28 (99,29 cm), L29 (85,88 cm) et L31 (89,33 cm) également présenté des niveaux d'insertion d'épi supérieurs à celle du témoin.

Tableau VII: Valeurs moyennes des paramètres de croissance et de développement chez les lignées

LIGNEES	Tger (%)	NF	Diam (mm)	HIE (cm)	Haut (cm)
L1	96,29±3,2^h	20±0,0 ^m	14,58±0,5 ^d	45,33±4,6 ^{ab}	121,53±8,7 ^b
L2	95,37±4,2^h	17,73±0,8 ^c	14,81±2,1 ^{de}	57,07±13,2 ^e	122,13±13,2 ^b
L3	93,51±4,2^h	19,6±0,7 ^j	13,54±2,7 ^b	76,33±14,7 ^m	140,87±16,2 ^e
L4	87,03±11,2 ^e	19,26±1,2 ^h	14,14±1,5 ^c	85,07±15,4 ⁿ	145,4±12,7 ^f
L5	87,96±4,2 ^e	18,6±0,6 ^f	17,55±2,9 ⁿ	81,53±12,1 ^m	169,6±16,5 ^l
L6	87,03±5,7 ^e	18±1,0 ^d	14,32±1,9 ^{cd}	53,27±8,9 ^{cd}	121,8±11,8 ^b
L7	83,33±7,3 ^e	20,73±2,1 ^o	15,30±2,3 ^f	71,87±16,4 ^j	147,93±15,8 ^g
L8	90,74±6,4 ^g	18,6±0,9 ^f	14,69±1,7 ^{de}	68,27±11 ^h	125,67±8,7 ^{bc}
L9	86,11±21,6 ^e	17±0,6a ^b	14,33±1,4 ^{cd}	57±8,6 ^e	158,6±7,5 ⁱ
L10	94,44±9,6^h	18,86±0,9 ^g	13,35±1,9 ^{ab}	60,07±15,7 ^{ef}	152,13±22,5 ^h
L11	84,25±10,5 ^e	18,26±0,7 ^e	16,08±1,5 ^{fg}	51,07±7 ^c	128,2±8,8 ^c
L12	86,11±5,5 ^e	20±0,0 ^m	13,88±0,1 ^c	58,67±20,6 ^e	148,4±1,5 ^g
L13	93,51±11,2^h	20±1,0 ^m	17,37±1,5 ^k	101,33±20,3^t	177,8±11,2 ^o
L14	77,77±5,5 ^d	17,93±1,3 ^d	13,85±1,8 ^c	49,73±12,4 ^b	130,87±15,3 ^{cd}
L15	93,51±5,7^h	19,4±0,9 ⁱ	17,84±2,4 ^m	92,4±11,3 ^q	174,27±19,3 ^m
L16	88,88±4,8 ^f	19,46±1,6 ⁱ	16,48±3,3 ^g	58,6±14 ^e	143,2±28 ^{ef}
L17	90,74±3,2 ^g	19,26±1,0 ^h	16,01±2,5 ^{fg}	55,87±9 ^{de}	159,6±11,4 ^{ij}
L18	87,96±4,2 ^e	18,66±1,0 ^{fg}	16,83±1,2 ⁱ	80,67±8,2 ^m	160,53±8,6 ^{ij}

L19	97,22±0,0^h	17,93±1,4 ^d	12,18±1,2^a	67,53±6,1 ^g	149,73±7,4 ^g
L20	87,96±8,4 ^e	16,8±0,5^a	13,72±2 ^{bc}	54,67±6,1 ^d	146,13±6,1f ^g
L21	79,62±18,9 ^d	17,53±0,7 ^{bc}	15,00±2,4 ^e	60,87±14,2 ^{ef}	131,53±17,7 ^{cd}
L22	81,48±9,7 ^d	18±0,8 ^d	18,07±2,1 ⁿ	72,8±6,8 ^k	159,4±9,8 ^{ij}
L23	87,96±4,2 ^e	19,4±1,2 ⁱ	15,70±1 ^{fg}	68,93±13,8 ⁱ	147,27±15,7 ^g
L24	52,77±4,8^a	19,88±1,0 ^k	14,84±2,2 ^{de}	95,8±13,6 ^r	172,13±11,8 ^m
L25	61,11±2,7 ^b	19,62±1,0 ^j	15,98±2 ^{fg}	66,47±9,9 ^f	162,93±13,6 ^j
L26	57,40±3,2 ^{ab}	19,57±1,1 ^j	16,28±1,7 ^{fg}	79,67±15,1 ^m	188,4±17 ^p
L27	62,03±8,0 ^{bc}	19,37±1,1 ⁱ	15,96±2,1 ^{fg}	54,71±11,3 ^d	138,29±14,8 ^d
L28	61,11±0,0 ^b	19,93±1,1 ^l	14,66±2,4 ^{de}	99,29±10,4 ^s	176,57±18,5 ⁿ
L29	63,88±2,7 ^c	20,26±1,0 ⁿ	17,95±1,8 ⁿ	85,88±6,2 ^o	178,25±14,8 ^o
L30	69,92±1,9 ^{cd}	21,40±0,7 ^p	15,57±3,7 ^{fg}	72,86±19 ^k	160±29,7 ^{ij}
L31	90,74±5,7 ^g	19,26±1,2 ^h	17,23±2,1 ^j	89,33±12,5 ^p	190,13±16,2 ^q
L32	94,44±4,8^h	19,73±0,9 ^k	19,10±1,8 ^p	71,8±11,5 ^j	157,2±17,4 ^{hi}
L33	85,18±11,2 ^e	17,4±1,2 ^b	18,37±1,9 ^o	70,6±11,5 ^{ij}	151,53±11,9 ^h
L34	78,70±22,2 ^d	18,13±1,1 ^{de}	14,07±2,2 ^c	50,47±6,3 ^{bc}	132,73±7,8 ^{cd}
L35	80,55±17,3 ^d	21,93±0,7^q	19,81±2,9^q	102,13±14,5^t	196,53±27,8^r
L36	97,22±2,7^h	18,6±0,8 ^f	15,79±2 ^{fg}	40,2±8,8^a	98,93±15,4^a
L37	82,40±16,7 ^e	19,53±0,9 ^j	14,98±2,1 ^e	54,33±18,2 ^d	110,07±9,8 ^{ab}
T0	89,58±7,3 ^g	18,41±1,2 ^{ef}	16,61±2,9 ^h	78,17±20,5 ^m	165,47±19,2 ^k
F	5,35	19,46	9,24	21,93	32,04
P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Tger : Taux de germination ; NbF : Nombre de feuilles ; Diam : Diamètre au collet des plantes ; HIE : Hauteur d'insertion de l'épi ; Haut : Hauteur de la plante ; F: constante ou variable de test de Fisher; p: probabilité associée au test d'ANOVA un facteur; les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (Test Student-Newman-Keuls, à 5 %).

1.1.2.3. Variation des paramètres de rendement

Le Tableau VIII présente la variation des moyennes des paramètres de rendement. Ce tableau révèle un effet hautement significatif (p-Value < 0,001) de la lignée sur l'ensemble de ces composantes du rendement.

Pour la masse de l'épis, une forte variation des moyennes a été observée. Ainsi, la lignée L9 a produit des épis avec les plus faibles masses (27,2 g) tandis que les épis de la lignée L29 ont été les plus lourds (122,3 g). Cependant, cette masse (122,3 g) bien qu'étant la plus élevée parmi la population de lignées étudiée, demeure statistiquement identique à celle du témoin T0 (123,81 g).

La masse de 100 grains des lignées étudiées a également varié. La lignée L3 a donné la plus faible masse de 100 grains (12,04 g). Les plus grandes masses de 100 grains ont été obtenues chez les lignées L29 (31,41 g) et L14 (32,21 g). Par rapport au témoin T0 (24,45 g), les lignées L1 (25,66

g), L10 (27,78 g), L15 (29,31 g), L29 (31,41 g) et L14 (32,21 g) ont présenté des valeurs moyennes supérieures à celle du témoin. Les lignées L12 (24,57 g), L31 (24,65 g) et L30 (24,8 g) ont présenté des moyennes statistiquement identiques au témoin.

Quant au nombre de graines par épi, hormis la lignée L1, qui a donné une moyenne (431,59 graines) statistiquement identique à celle du témoin T0 (458,33), toutes les autres lignées ont enregistré des nombres de graines par épi inférieurs à ceux du témoin.

Les lignées L37 et L9 ont enregistré les rendements en grains les plus faibles avec les valeurs respectives de 0,75 et 0,82 t/ha. La lignée L1 avec un rendement de 3,44 t/ha, statistiquement identique à celui du témoin T0 (3,45 t/ha) a été la plus productive des lignées.

Tableau VIII: Variation des paramètres de rendement chez les lignées étudiées

LIGNEES	ME (g)	M100G (g)	NGE	Rend (t/ha)
L1	112,31±15,9 ^k	25,66±3,7 ^d	431,59±31,2ⁱ	3,44±0,4^l
L2	53,76±6,8 ^c	18,09±0,3b ^c	230,62±31,6 ^d	1,30±0,1 ^c
L3	31,13±3,4 ^{ab}	12,04±0,8^a	247,76±42,8 ^d	0,92±0,1 ^{ab}
L4	43,84±19,5 ^c	18,99±5,0 ^c	221,66±55,3 ^c	1,35±0,6 ^c
L5	83,82±5,9 ^g	20,16±0,4 ^{cd}	286,22±47,0 ^e	1,80±0,3 ^d
L6	70,12±4,1 ^{de}	21,02±1,4 ^{cd}	243,33±25,7 ^d	1,59±0,1 ^{cd}
L7	78,14±18,5 ^f	21,44±1,9 ^{cd}	272,35±45,3 ^d	1,84±0,4 ^d
L8	53,33±4,9 ^c	23,03±2,2 ^{cd}	237,82±8,3 ^d	1,71±0,1 ^d
L9	27,2±4,9^a	21,01±1,4 ^{cd}	126,22±15,6^a	0,82±0,0^a
L10	76,02±10,7 ^e	27,78±3,6 ^e	221,75±6,4 ^c	1,92±0,2 ^d
L11	62,00±14,1 ^{cd}	18,77±3,0 ^c	288,82±64,0 ^e	1,33±0,7 ^c
L12	76,32±7,7 ^e	24,57±0,5 ^{cd}	290,27±9,8 ^e	2,22±0,1 ^g
L13	66,68±0,5 ^d	15,98±1,3 ^b	330,45±7,8 ^g	1,64±0,1 ^{cd}
L14	54,10±5,5 ^c	32,21±22,7^h	230,25±16,7 ^d	2,23±1,4 ^h
L15	107,68±11,3 ^j	29,31±2,2 ^f	294,88±35,2 ^e	2,69±0,2 ⁱ
L16	70,91±24,2 ^{de}	18,14±1,1 ^{bc}	286±61,9 ^e	1,63±0,4 ^{cd}
L17	44,77±2,7 ^c	18,72±0,4 ^c	195,27±15,72 ^{bc}	1,14±0,0 ^c
L18	84,91±8,0 ^g	22,94±0,7 ^{cd}	314,40±29,35 ^f	2,25±0,1 ^h
L19	40,36±5,0 ^{bc}	12,51±1,7 ^{ab}	266,91±45,1 ^d	1,03±0,1 ^{bc}
L20	42,80±2,3 ^c	18,49±2,0 ^{bc}	205,78±40,0 ^{bc}	1,17±0,1 ^c
L21	31,14±11,6 ^{ab}	13,33±1,5 ^{ab}	223,75±33,5 ^c	0,93±0,2 ^{ab}
L22	67,65±5,1 ^d	23,72±2,3 ^{cd}	292,65±12,4 ^e	2,17±0,3 ^f
L23	74,48±8,6 ^e	20,69±1,0 ^{cd}	251,87±13,0 ^d	1,63±0,1 ^{cd}
L24	73,55±6,3 ^e	17,28±2,4 ^{bc}	304,21±35,5 ^e	1,66±0,4 ^{cd}
L25	59,21±11,0 ^{cd}	19,77±0,4 ^{cd}	160,41±18,5 ^{ab}	0,99±0,1 ^b
L26	86,60±62,1 ^h	22,71±1,1 ^{cd}	391,07±67,1 ^h	2,76±0,3 ^j

L27	70,28±13,9 ^{de}	20,30±0,7 ^{cd}	243,30±56,6 ^d	1,55±0,4 ^c
L28	74,54±14,4 ^e	13,48±0,7 ^{ab}	312,33±42,0 ^f	1,31±0,1 ^c
L29	122,33±13,5^l	31,41±1,8 ^g	308,08±34,4 ^f	3,03±0,5 ^k
L30	100,53±10,6 ⁱ	24,80±1,8 ^{cd}	302,97±18,2 ^e	2,34±0,0 ^h
L31	76,00±7,9 ^e	24,65±1,4 ^{cd}	246,04±19,0 ^d	1,89±0,1 ^d
L32	55,97±3,5 ^c	20,49±2,3 ^{cd}	229,47±25,2 ^d	1,45±0,0 ^c
L33	59,49±3,4 ^{cd}	16,74±3,1 ^{bc}	248,33±26,6 ^d	1,28±0,1 ^c
L34	47,95±2,7 ^c	19,82±0,9 ^{cd}	186,88±3,2 ^b	1,15±0,0 ^c
L35	102,46±24,3 ⁱ	22,99±1,2 ^{cd}	287,43±63,7 ^e	2,05±0,3 ^e
L36	56,40±3,5 ^c	16,18±2,2 ^b	241,16±36,2 ^d	1,20±0,0 ^c
L37	35,93±13,7 ^b	13,04±0,6 ^{ab}	185,25±46,2 ^b	0,75±0,1^a
T0	123,81±7,2^l	24,45±4,4 ^{cd}	458,33±66,2ⁱ	3,45±0,4^l
F	8,96	4,32	9,6	10,09
P	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Rend : Rendement en grains ; M100G : Masse de 100 grains ; ME : Masse de l'épi ; NGE : Nombre de grains par épi ; F: constante ou variable de test de Fisher; p: probabilité associée au test d'ANOVA un facteur; les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes (Test Student-Newman-Keuls, à 5 %).

1.1.3. Corrélation entre les caractères étudiés et factorisabilité des données

La matrice de corrélation de Pearson des différents caractères étudiés est rapportée dans le Tableau IX. Des corrélations positives et très significatives ($r > 0,7$) ont été observées entre certains couples de paramètres. Il s'agissait des couples floraison mâle et femelle ($r = 0,94$), masse de l'épi et nombre grains par épi ($r = 0,77$), masse de l'épi et rendement en grains des lignées (0,89), rendement en grains des lignées et la masse de 100 grains ($r = 0,76$) ainsi que le nombre grains par épi (0,81), la hauteur des plantes et le niveau d'insertion de l'épi ($r = 0,83$).

Par ailleurs, l'indice KMO global pour la matrice (0,631) et le test de sphéricité de Bartlett (361,699) présentés dans le tableau X sont significatifs ($p = 0,000$). Ces résultats confirment que la matrice de données peut être soumise à des analyses factorielles exploratoires.

Tableau IX: Matrice de corrélation entre les variables mesurées

	Tger	FoM	FoF	NbF	ME	M100G	NGE	Rend	Diam	HIE	Haut
Tger	-										
FoM	-0,12	-									
FoF	-0,07	0,94	-								
NbF	-0,30	0,09	-0,01	-							
ME	-0,19	-0,23	-0,28	0,53	-						
M100G	-0,06	-0,11	-0,10	0,18	0,64	-					
NGE	-0,07	-0,42	-0,44	0,35	0,77	0,26	-				
Rend	-0,08	-0,35	-0,35	0,35	0,89	0,76	0,81	-			
Diam	-0,07	0,05	0,04	0,32	0,47	0,23	0,26	0,31	-		
HIE	-0,27	-0,06	-0,10	0,48	0,40	0,04	0,35	0,25	0,47	-	
Haut	-0,35	-0,08	-0,09	0,41	0,46	0,26	0,30	0,34	0,51	0,83	-

Tger : Taux de germination ; FoM : Floraison mâle ; FoF : Floraison femelle ; NbF : Nombre de feuilles ; ME : Masse de l'épi ; M100G : Masse de 100 grains ; NGE : Nombre de grains par épi ; Rend : Rendement en grains ; Diam : Diamètre au collet des plantes ; HIE : Hauteur d'insertion de l'épi ; Haut : Hauteur de la plante.

Tableau X: Indice de KMO pour la matrice et test de Bartlett

Indice de Kaiser-Meyer-Olkin pour la mesure de la qualité	0,631
Test de sphéricité de Bartlett	Khi-deux approx
	361,699
	Ddl
	55
	Signification
	0,000

1.1.4. Structuration de la diversité inter-lignées

1.1.4.1. Choix et analyse des axes

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a transformé les 11 descripteurs brutes ou paramètres mesurés en autant de facteurs ou Composantes Principales (Axes). La première Composante Principale (Axe 1) a le plus contribué à la variabilité (39,91 %) tandis que la dernière (Axe 11) a le moins contribué (0,1 %). Les valeurs propres ont varié de 0,01(axe 11) à 4,39 (axe 1).

Par ailleurs, l'inertie des axes factoriels indique d'une part si les variables sont structurées et suggère d'autre part le nombre judicieux de composantes principales à étudier. Les 2 premiers axes de l'analyse ont exprimé 60,18 % de l'inertie totale du jeu de données (Tableau XI) ; cela signifie que 60,18 % de la variabilité totale du nuage des individus (ou des variables) est représentée dans ce plan. C'est un pourcentage assez important, et le premier plan représente donc convenablement la variabilité contenue dans une grande part du jeu actif de données. Cette valeur est nettement

supérieure à la valeur référence de 36,47 % ; la variabilité expliquée par ce plan est donc hautement significative (cette inertie de référence est le quantile 0.95-quantile de la distribution des pourcentages d'inertie obtenue en simulant 3706 jeux de données aléatoires de dimensions comparables sur la base d'une distribution normale). Une estimation du nombre pertinent d'axes à interpréter suggère de restreindre l'analyse à la description des 2 premiers axes. Cette observation suggère que seuls ces axes sont porteurs d'une véritable information. En conséquence, ces deux premiers axes ont été choisis pour la structuration de la diversité au sein des lignées de maïs étudiées.

Tableau XI: Valeurs propres et pourcentage de variance des axes de l'ACP

Composante	Valeurs propres initiales		
	Total	% de la variance	% cumulé
1	4,390	39,907	39,907
2	2,230	20,270	60,177
3	1,407	12,788	72,965
4	0,940	8,550	81,514
5	0,751	6,830	88,344
6	0,512	4,657	93,001
7	0,493	4,480	97,481
8	0,127	1,152	98,633
9	0,094	0,852	99,485
10	0,046	0,414	99,900
11	0,011	0,100	100,000

1.1.2.4. Contribution des paramètres à la construction des axes

L'examen des coordonnées des variables (Tableau XII) a montré que les paramètres de production (masse de l'épi, nombre de grains par épi et rendement) ont le plus concouru à la construction du premier axe. Le second axe a quant à lui été élaboré par les paramètres de floraison (floraison mâle et floraison femelle).

Tableau XII: Contribution des paramètres à la réalisation des axes

Paramètres	Axe 1	Axe 2
ME	0,92	-0,02
Rend	0,87	-0,25
NGE	0,79	-0,28
Haut	0,67	0,44
HIE	0,62	0,45
NbF	0,57	0,41
Diam	0,54	0,39
FoM	-0,38	0,79
FoF	-0,42	0,75
Tger	-0,26	-0,42
M100G	0,579	-0,09

Tger : Taux de germination ; FoF : Floraison femelle ; FoM : Floraison mâle ; NbF : Nombre de feuilles ; Diam : Diamètre au collet des plantes ; HIE : Hauteur d'insertion de l'épi ; Haut : Hauteur de la plante ; Rend : Rendement en grains ; M100G : Masse de 100 grains ; ME : Masse de l'épi ; NGE : Nombre de grains par épi.

1.1.2.5. Projection des variables sur le cercle corrélation

La Figure 28 présente la projection des variables sur le cercle de corrélation. Les corrélations entre les différentes variables sont fonction des angles qui séparent les vecteurs représentant ces variables. Plus deux variables sont fortement corrélées, plus l'angle formé par leurs vecteurs est faible. L'examen du cercle de corrélation a confirmé les corrélations entre les variables précédemment observées avec la matrice de corrélation.

En outre, le cercle de corrélation a révélé une importance significative de la majorité des paramètres dans la discrimination des lignées, à l'exception du taux de germination et de la masse de 100 grains (vecteurs plus courts).

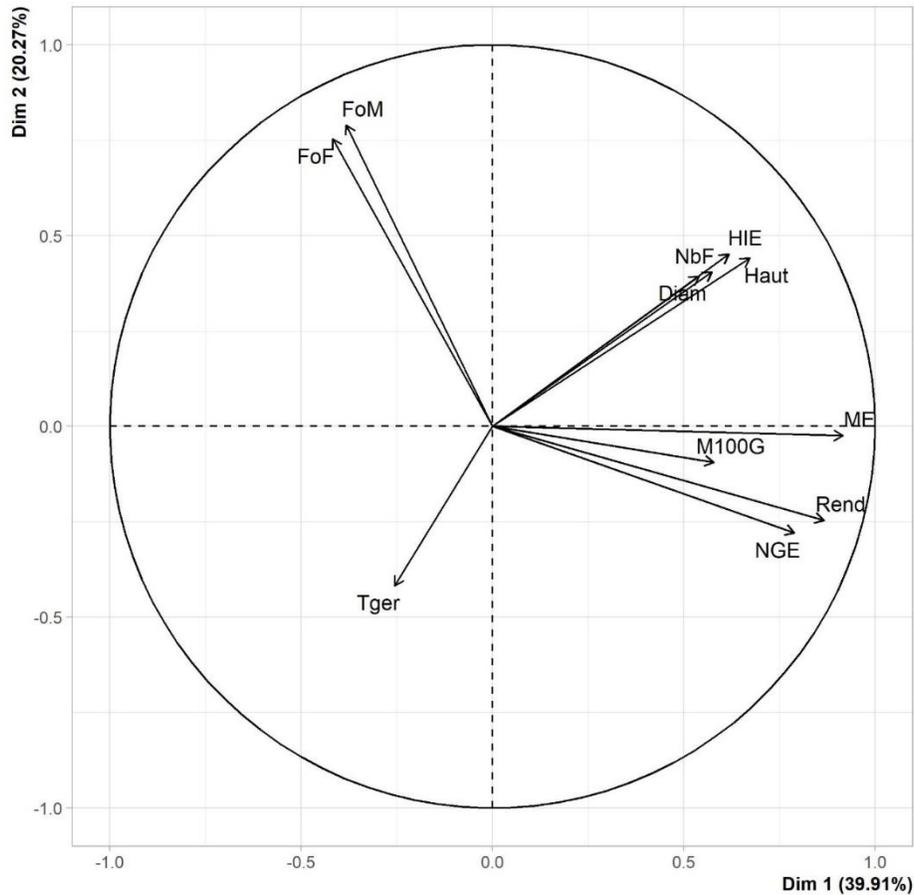


Figure 28: Cercle de corrélation des variables aux facteurs

1.1.2.6. Projection des individus dans le plan factoriel

La figure 29 présente la projection des lignées sur le plan formé par les axes 1 et 2. La dispersion des lignées dans ce plan a permis de distinguer 7 groupes. Le groupe 1 était composé des lignées L9 et L37, caractérisées par leur tardiveté et leur faible production. Les lignées L2, L3, L19, L20, L21 et L36 ont formé le groupe 2. Il s'agit des lignées à faible nombre de feuille, de masse de graines, de croissance et de rendement. Le groupe 3 renfermait les lignées à plus faible nombre de grains par épi. Ce sont, les lignées L4, L6, L11, L17, L25, L27, L32 et L33. Le groupe 4 était composé des lignées L8, L10, L12, L14, L16 et L23 avec de fortes masses de grains. Les lignées L5, L7, L13, L18, L22, L24, L28, L30 et L31 ont composé le groupe 5. Ces lignées sont caractérisées par de grandes plantes ayant des hauteurs d'insertion d'épis les élevées. Le groupe 6, avec des individus à forte production renfermait uniquement la lignée L1 et le témoin T0 ; tandis

que le groupe 7 étaient composé des lignées L15, L26, L29 et L35. Ce dernier renfermait des lignées à forte croissance, à feuillage abondant et à haut rendement en grains.

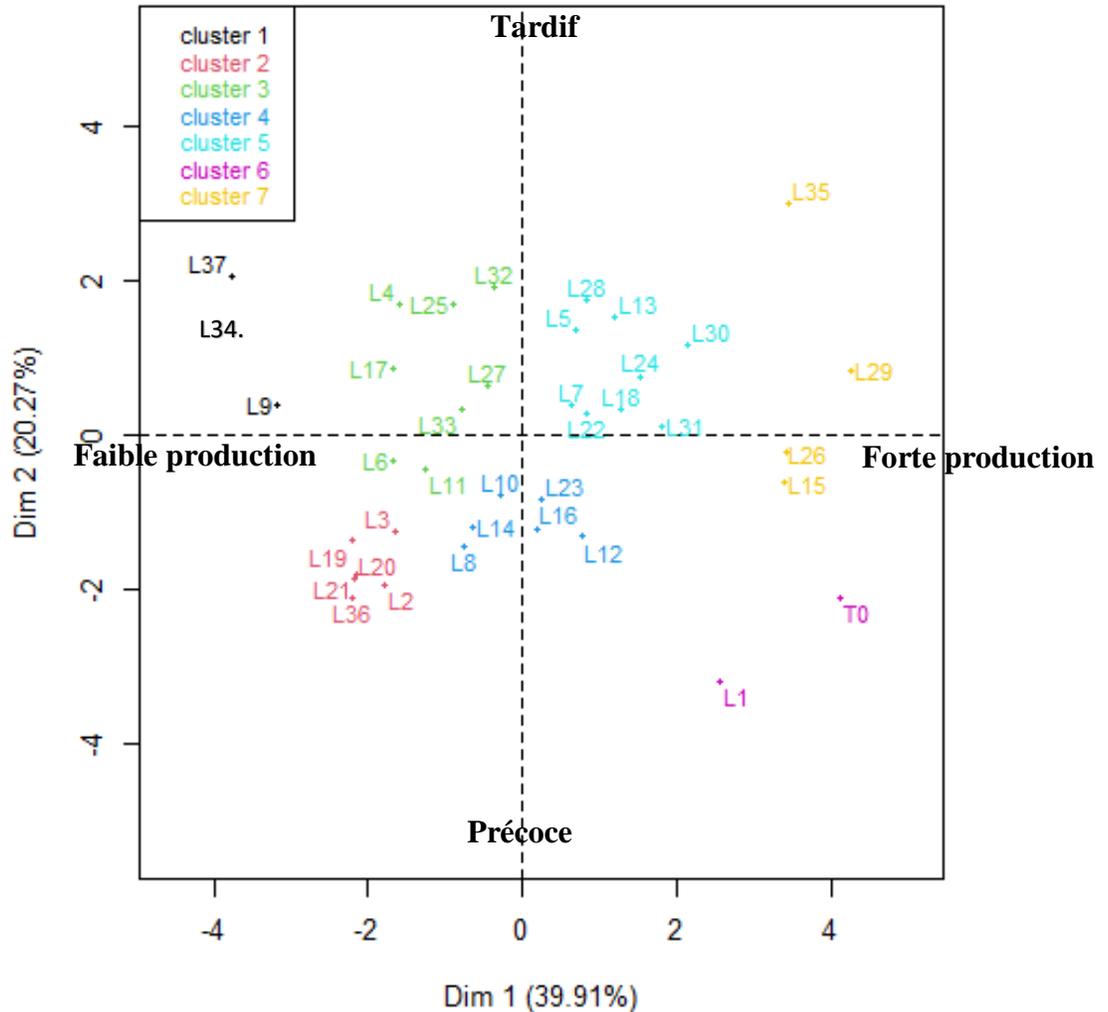


Figure 29: Projection des lignées dans le plan factoriel

1.1.5.6. Analyse de la distance génétique entre les lignées sur la base des caractères phénotypiques étudiés

Les distances génétiques entre les différentes paires de lignées de maïs étudiées ont été calculées au moyen des distances de Manhattan sur la base des 11 caractères étudiés. Il ressort de cette analyse que le coefficient de similarité entre toutes les paires de lignées a varié de 0,657 à 1. Les

lignées L28 et L24 ont été les plus proches génétiquement avec un coefficient de similarité de 1. Cependant, avec 65,7 % de ressemblance, les lignées L1 et L9 ont été les plus génétiquement éloignées.

1.1.5.7. Classification hiérarchique ascendante des lignées

Les coefficients de similarité calculés ont permis de réaliser la classification hiérarchique ascendante (CHA) des lignées étudiées. Le dendrogramme (Figure 30), issu de cette analyse a été réalisé avec la méthode d'agrégation de Ward, au point du niveau de troncature 0,3 a confirmé la structuration en sept groupes statistiquement distincts des lignées comme précédemment révélée par l'ACP.

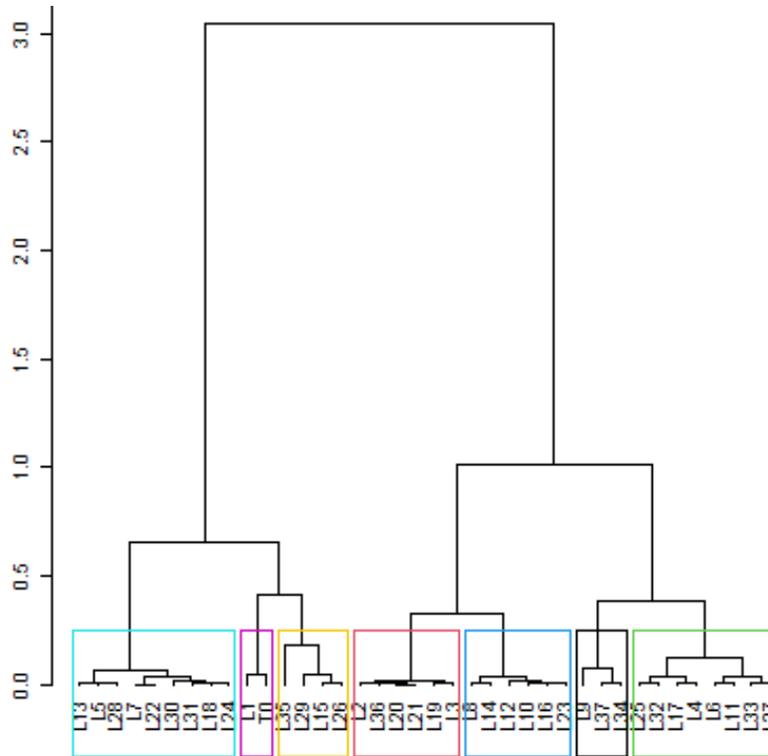


Figure 30: Dendrogramme issu de la classification hiérarchique ascendante des lignées

1.2. Discussion

Dans l'objectif de produire une base génétique plus large du maïs, les semences de la variété EV8728 ont été irradiées. La sélection généalogique conduite durant 5 générations a permis le développement de 264 lignées mutantes de maïs. Ce nombre important de lignées obtenues à partir d'une seule variété mère indique d'emblée l'efficacité du rayonnement gamma pour générer des modifications dans le génome du maïs. En effet, selon Zafar *et al.* (2022), l'irradiation gamma est une onde électromagnétique qui a la capacité de provoquer de façon aléatoire de nombreux changements au niveau de l'ADN des plantes. Le résultat obtenu dans la présente étude est conforme à ceux de plusieurs auteurs ayant développé une grande variabilité en utilisant l'irradiation gamma dans leurs travaux de création variétale. C'est le cas par exemple de Saibari *et al.* (2023) sur l'arachide, de Ahmad *et al.* (2022) sur les plantes de teck, de Ali *et al.* (2022) sur la tomate et de Larekeng *et al.* (2022) sur le Fraké.

L'évaluation de la diversité génétique de 37 lignées sélectionnées parmi celles développées, a été réalisée en utilisant des descripteurs phénotypiques. Les résultats obtenus ont montré des différences très significatives entre les lignées étudiées, mais aussi entre ces lignées et le témoin EV8728 pour la quasi-totalité des caractères considérés. Ces résultats mettent en exergue le pouvoir discriminant des caractères utilisés pour évaluer les lignées. En effet, dans la détermination de la diversité génétique au sein d'une population végétale, les descripteurs utilisés se doivent d'être assez discriminants (N'da *et al.*, 2015). La pertinence des caractères choisis dans ce travail est en accord avec Cinyabuguma *et al.* (2018), Banza *et al.* (2019) et Samba (2023). Ces auteurs rapportent que les caractères végétatifs (hauteur de la plante et hauteur d'insertion de l'épi), la durée du stade végétatif (délai de floraison) et certains paramètres de l'épi sont de bons critères pour la distinction des variétés de maïs. Les résultats obtenus témoignent d'une grande diversité génétique entre les lignées étudiées. Cette grande variabilité pourrait s'expliquer par l'irradiation appliquée aux semences de la variété EV8728. Selon Riviello-Flores *et al.* (2022) et FAO/AIEA (2020), l'exposition des semences au rayonnement gamma engendre dans le génome de celles-ci des modifications à l'origine de différents caractères phénotypiques. Nos résultats corroborent ceux de Nanhapo *et al.* (2024) qui ont obtenu au cours de travaux de sélection après irradiation de semences de vigne, plusieurs lignées exhibant une grande diversité génétique.

Les paramètres de germination (délai et taux de germination) sont des critères importants pour évaluer la capacité de germination de chaque lignée (Manon, 2020). Les résultats de cette étude ont révélé des délais de germination variant de 5 à 6 jours après semis et des taux de germination supérieurs à 50 %. Ces résultats traduisent une bonne capacité germinative de l'ensemble des lignées étudiées. Des résultats similaires ont été rapportés par Cinyabuguma *et al.* (2018) en Zambie et Siéné *et al.* (2020) en Côte d'Ivoire.

Les résultats ont aussi montré une grande variation du taux de germination allant 52,77 % (L24) à 97,22 % (L32 et L19). Ces divers taux de germination pourraient s'expliquer entre autres par un effet génétique. En effet, Oluwaranti *et al.* (2020) et Bizouerne (2021), travaillant respectivement sur le maïs et la tomate ont rapporté que la germination des semences au champ est fonction des performances génétiques. Granado-Rodríguez *et al.* (2021), ont aussi affirmé que la différence de germination des semences pourrait être dépendante du génotype. Par ailleurs, les taux de germination largement supérieurs à celui du témoin T0 enregistrés chez les lignées L3, L13, L115, L10, L32, L2, L1, L32 et L36 laisse entrevoir l'effet bénéfique de l'irradiation gamma sur le pouvoir germinatif de celles-ci. L'effet bénéfique de l'irradiation gamma sur le pouvoir germinatif des graines a été démontré par les travaux de de Djibo & Lei (2014) et Zanzibar & Sudrajat (2016) respectivement sur la tomate et le Magnolier (*Magnolia champaca* L.).

L'examen du cycle végétatif a montré d'importants écarts entre les différentes lignées étudiées. Les délais ont varié de 55,76 à 65,48 et 55,10 à 63,51 jours respectivement pour les floraisons mâle et femelles. Ces variations du cycle floral des plantes sont liées à la variabilité génétique des lignées (Dooner *et al.*, 2019). En effet, étudiant l'impact des gènes sur le cycle de floraison chez le maïs, Kahrman *et al.* (2015) ont attribué ces variations à une différence de gènes. Les résultats obtenus dans la présente étude sont donc la conséquence des différentes mutations induites par l'irradiation au rayonnement gamma. Le cycle de floraison chez le maïs est un caractère assez complexe. En effet, plus de 60 QTLs pour le temps de floraison impliquant 5 à 6 régions chromosomiques ont été détectés chez le maïs (Durand, 2012). Du *et al.* (2021) étudiant les bases génétiques de la durée de floraison à l'aide de deux populations haploïdes doublées chez le maïs, ont montré que la variation des délais de floraison étaient liés au génotype de chaque lignée. Aussi, 12 QTLs ont été identifiés pour le délai de floraison par ces auteurs. Des mutations au niveau de ces nombreux QTLs pourraient alors être à l'origine de la diversité de délai de floraison dans notre étude.

La précocité à la floraison de la lignée L21 par rapport au témoin T0 (EV8728) traduit l'effet bénéfique de l'irradiation gamma sur le cycle végétatif. En effet, le raccourcissement du délai de floraison par l'irradiation gamma a déjà été rapporté par des auteurs. C'est le cas des travaux d'Asaré *et al.* (2017) sur le gombo qui ont montré que les plantes issues des semences irradiées ont été les plus précoces à la floraison par rapport aux plantes témoins. Par ailleurs, les résultats ont montré l'allongement du délai de floraison chez certaines lignées. Ce retard à la floraison est également dû aux mutations provoquées par les rayons gamma, affirmation soutenues par les travaux de Singh *et al.* (2017) chez certaines variétés de tubercules.

Quant à l'écart à la floraison, elle a été relativement faible, au plus 4 jours, indiquant la synchronisation des floraisons mâle et femelle de ces lignées. Nos résultats sont en accord avec ceux de Mercer & Perales (2019), qui ont rapporté que l'intervalle de temps requis entre la floraison mâle et femelle chez le maïs n'excède pas cinq jours. De plus, une forte corrélation positive a été enregistrée entre les floraisons mâle et floraison femelle, comme cela a été démontré par de Moussa *et al.* (2018).

Les résultats obtenus ont montré que 76 et 68 % des lignées ont respectivement présenté des hauteurs et des niveaux d'insertion de l'épi statistiquement inférieures au témoin. Cela montre que l'irradiation gamma a réduit la taille de certaines lignées. Les mêmes observations ont été faites par Singh *et al.* (2009) sur des mutants de blé obtenus par irradiation gamma, ces auteurs ont trouvé des mutants plus courts que le parent non irradié. De même, Nikiema (2021) a observé une diminution significative de la hauteur des mutants de sorgho par rapport au témoin non irradié. Ces réductions de taille et de hauteur d'insertion d'épis observées peuvent être bénéfiques. En effet, la hauteur de la plante et le niveau d'insertion de l'épi représentent des paramètres très importants dans la culture du maïs (Modolo *et al.*, 2013 ; Banza *et al.*, 2019). Ces deux paramètres affectent directement l'efficacité de l'utilisation des nutriments, la résistance à la verse et, donc, le rendement du maïs (Useni *et al.*, 2013 ; Wang *et al.*, 2023). En outre, selon Zhao *et al.* (2022), la réduction de la croissance baisse le centre de gravité, augmente la résistance mécanique de la tige basale et accroît la force d'ancrage des racines du maïs, ce qui conduit à une résistance accrue à la verse.

S'agissant du nombre de feuilles, les plantes témoin T0 ont été nettement moins garnies en feuilles que la quasi-totalité des lignées étudiées. Ces résultats laissent supposer un effet stimulateur des rayons gamma sur la production de feuilles. Des résultats similaires ont été obtenus par Asaré *et*

al. (2017) au cours de leurs travaux sur des mutants de gombo issus d'irradiation gamma. Pour ces auteurs, l'irradiation a stimulé la kinétine, l'hormone régulatrice de croissance pour l'émission foliaire.

Dix lignées sur les 37 étudiées ont donné des plantes de diamètres supérieurs à celles du témoin T0. Ce résultat révèle aussi bien l'effet dépressif que bénéfique de l'irradiation gamma sur le diamètre au collet. Ce double effet de l'irradiation gamma sur le diamètre des plantes a également été observé par Asaré *et al.* (2017) sur des mutants induits de gombo, Mounir *et al.* (2022) et Ulukapi & Ozmen (2018), respectivement sur le topinambour, aussi appelé artichaut de Jérusalem (*Helianthus tuberosus* L.) et sur le haricot. Le pourcentage élevé de lignées ayant présenté un diamètre au collet supérieur au témoin témoigne de l'effet bénéfique de l'irradiation sur ce paramètre. En effet, le diamètre au collet des plantes constitue un bon indicateur de la capacité assimilatrice de la plante et de sa production en biomasse, c'est donc un bon indicateur de productivité (Fagherazzi *et al.*, 2021) et de résistance à la verse (Zhang *et al.*, 2021). Kikakedimau *et al.* (2022) ont obtenu des résultats similaires avec des mutants de maïs qui présentaient des valeurs de diamètre au collet plus élevées que le témoin non irradié.

La masse de 100 grains élevée chez certaines lignées par rapport au témoin laisse entrevoir l'effet bénéfique de l'irradiation gamma sur ce paramètre. Des résultats similaires ont été obtenus par Khah & Verma (2015) et Fernane-Meliani *et al.* (2021) qui ont observé un effet stimulateur des rayons gamma sur la masse des semences de blé tendre. De même, Tabti (2018) a également identifié des mutants de lentille (*Lens culinaris* M.) avec des masses plus élevées que celles du témoin non irradié.

En matière de rendement en grains, aucun gain notable n'a été observé au niveau des lignées comparativement au témoin non irradié. Cet effet dépressif de l'ionisation gamma sur le rendement en grains du maïs a déjà été rapporté par Yadav *et al.* (2019). En effet, les travaux de ceux-ci ont montré des taux de réduction par rapport au témoin de 22,8 à 56,9 %.

A l'aide d'une Analyse en Composantes Principales (ACP), l'ensemble des informations recueillies a permis de distinguer 7 groupes de lignées. Ce résultat a été confirmé par la Classification Hiérarchique Ascendante (CHA). Cette structuration de la diversité a montré pour chaque groupe des traits spécifiques intéressants. Ces groupes constituent de ce fait, des réservoirs intéressants de gènes pour l'amélioration du maïs.

Conclusion partielle

Ce premier volet de notre étude a été initiée afin de créer des lignées de maïs par la mutation induite au rayonnement Gamma. Ainsi, la sélection généalogique utilisée au cours de cinq générations de culture a permis d'obtenir 264 lignées mutantes de maïs. En outre, une caractérisation phénotypique de 37 de ces lignées développées a révélé d'importantes différences significatives non seulement entre les lignées choisies, mais aussi entre ces lignées et le témoin non irradié. Concernant certains caractères, un gain significatif pour certaines lignées par rapport au témoin a été observé. Notamment la précocité et la vigueur des plantes.

La diversité phénotypique observée traduit l'existence d'une diversité génétique. Cette diversité entre les lignées a été structurée en sept groupes statistiquement distincts par l'analyse en composantes principales et confirmée par la classification hiérarchique ascendante.

2. POTENTIEL DE RÉSISTANCE À LA SÉCHÉRESSE DES LIGNÉES DÉVELOPPÉES

2.1. Résultats

2.1.1. Effet du stress hydrique sur la densité et le degré d'ouverture des stomates

Les résultats relatifs aux paramètres stomatiques sont consignés dans le Tableau XIII. L'examen de ce tableau révèle un effet hautement significatif du stress hydrique sur les paramètres considérés. En effet, les valeurs moyennes des paramètres considérés pour chacune des lignées sous stress ont significativement diminué par rapport aux valeurs enregistrées en condition d'arrosage normal (Figure 31).

La lignée L21, en condition normale a présenté des feuilles avec de faibles densités stomatiques (284 stomates/ μm^2) tandis que les plus fortes valeurs ont été observées chez les lignées L27, L30 et L37 avec des densités moyennes d'environ 589 stomates/ μm^2 . Sous stress hydrique, la lignée L36 a présenté les feuilles les moins pourvues de stomates avec 322,8 stomates/ μm^2 en moyenne, tandis que la Lignée L27 avec 583,6 stomates/ μm^2 a enregistré la plus forte valeur.

En condition normale d'apport d'eau, le degré d'ouverture des stomates a varié entre 0,13 mm^2 (L21) et 0,25 mm^2 (L33). Sous stress hydrique, la plus faible valeur (0,15 mm^2) a été enregistrée chez les lignées L7, L9, L11, L21, L25 et L34. Cette valeur demeure statistiquement identique à celle enregistrée chez le témoin résistant T03 (0,1 mm^2).

Tableau XIII: Variation des paramètres stomatiques en fonction du stress appliqué

LIGNÉES	Densité (stomates/ μm^2)		SPS (mm^2)	
	NS	S	NS	S
L1	428,7±9,8 ^{de}	413,2±7,2 ^d	0,17±0,01 ^c	0,18±0,01 ^{ab}
L2	444,2±5,9 ^e	433,8±7,8 ^e	0,22±0,01 ^{cd}	0,17±0,05 ^{ab}
L3	464,6±3,2 ^e	415,6±4,2 ^e	0,22±0,01 ^{cd}	0,17±0,02 ^{ab}
L4	454,5±6 ^e	449,3±4,3 ^e	0,23±0,09 ^{cd}	0,19±0,07 ^{ab}
L5	428,7±3 ^{de}	392,5±4,6 ^c	0,17±0,02 ^c	0,21±0,05 ^{ab}
L6	377,0±1,9 ^{cd}	377,0±1,9 ^b	0,17±0,01 ^c	0,17±0,01 ^{ab}
L7	511,3±5,9 ^{ef}	485,5±6,2 ^{ef}	0,16±0,02 ^b	0,15±0,01^a
L8	402,8±3,5 ^d	366,7±4,9 ^b	0,22±0,02 ^{cd}	0,23±0,03^b
L9	464,8±9,6 ^e	431,3±8,2 ^e	0,16±0,02 ^b	0,15±0,02^a
L10	377,1±3,4 ^{cd}	377,0±1 ^b	0,17±0,03 ^c	0,18±0,02 ^{ab}
L11	464,8±7,2 ^e	459,7±6,2 ^e	0,18±0,01 ^c	0,15±0,03^a
L12	377,0±4,8 ^{cd}	397,7±5,2 ^d	0,23±0,01 ^{cd}	0,21±0,02 ^{ab}
L13	444,2±7 ^e	415,8±5,9 ^e	0,19±0,03 ^c	0,17±0,03 ^{ab}

L14	547,5±5,9 ^f	532,0±5,8 ^f	0,17±0,01 ^c	0,16±0,01 ^{ab}
L15	509,6±3,1 ^{ef}	481,1±6,5 ^{ef}	0,22±0,01 ^{cd}	0,18±0,03 ^{ab}
L16	380,1±2,1 ^{cd}	377,1±3,2 ^{ef}	0,22±0,01 ^{cd}	0,17±0,0 ^{ab}
L17	454,5±2,9 ^e	441,6±2,6 ^e	0,21±0,02 ^c	0,19±0,03 ^{ab}
L18	340,9±2,6 ^b	366,7±5,3 ^b	0,22±0,02 ^{cd}	0,19±0,04 ^{ab}
L19	511,3±9,5 ^{ef}	477,7±8,5 ^{ef}	0,20±0,03 ^c	0,17±0,04 ^{ab}
L20	461,4±4,3 ^e	495,8±10 ^{ef}	0,18±0,02 ^c	0,16±0,03 ^{ab}
L21	284,0±3^a	371,9±10,7 ^b	0,13±0,01^a	0,15±0,02^a
L22	454,5±4,4 ^e	454,5±4,4 ^e	0,19±0,03 ^c	0,19±0,03 ^{ab}
L23	490,7±5,1 ^e	506,1±7,4 ^{ef}	0,16±0,01 ^b	0,16±0,01 ^{ab}
L24	408,0±5,4 ^d	389,9±4,4 ^c	0,21±0,02 ^c	0,20±0,02 ^{ab}
L25	530,3±9,7 ^f	502,7±7,2 ^{ef}	0,15±0,01 ^{ab}	0,15±0,004^a
L26	470,0±10,8 ^e	420,9±8,8 ^e	0,20±0,01 ^c	0,18±0,02 ^{ab}
L27	588,8±7,6^g	583,6±7,9^g	0,17±0,03 ^c	0,17±0,03 ^{ab}
L28	459,7±8,1 ^e	415,8±8,4 ^e	0,16±0,01 ^b ^c	0,16±0,01 ^{ab}
L29	485,5±6,4 ^e	451,9±5,8 ^e	0,16±0,03 ^b ^c	0,17±0,03 ^{ab}
L30	588,8±8,5^g	522,4±10,7 ^f	0,21±0,01 ^c	0,19±0,03 ^{ab}
L31	356,4±3,5 ^c	369,3±3,8 ^b	0,24±0,01 ^d	0,19±0,05 ^{ab}
L32	402,8±2,6 ^d	392,5±3,4 ^c	0,23±0,05 ^{cd}	0,21±0,05 ^{ab}
L33	356,4±1,9 ^c	402,8±6,5 ^d	0,25±0,03^e	0,21±0,04 ^{ab}
L34	433,8±4,4 ^{de}	439,0±3 ^e	0,16±0,03 ^b	0,15±0,03^a
L35	459,7±1,9 ^e	379,6±8,6 ^b	0,18±0,03 ^c	0,18±0,02 ^{ab}
L36	387,3±8,1 ^d	322,8±13,9^a	0,19±0,01 ^c	0,20±0,01 ^{ab}
L37	588,8±4,9^g	547,5±8,1 ^{fg}	0,18±0,01 ^c	0,19±0,02 ^{ab}
T01	426,9±6,6 ^{de}	427,9±6 ^e	0,18±0,04 ^c	0,18±0,02 ^{ab}
T02	459,7±1 ^e	472,6±3,8 ^{ef}	0,19±0,01 ^c	0,19±0,01 ^{ab}
T03	428,7±2,5 ^{de}	436,4±2,5 ^e	0,14±0,01 ^{ab}	0,1±0,03^a
F	5,095	5,279	4,035	2,604
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Les moyennes suivies de la même lettre dans une colonne, sont statistiquement identiques à 5 % de probabilité selon le test de Newman-Keuls. **P** : Probabilité approximative des tests ; **SPS** : degré d'ouverture des stomates ; **F** : constance de Fischer ; **S** : stress ; **NS** : non stress

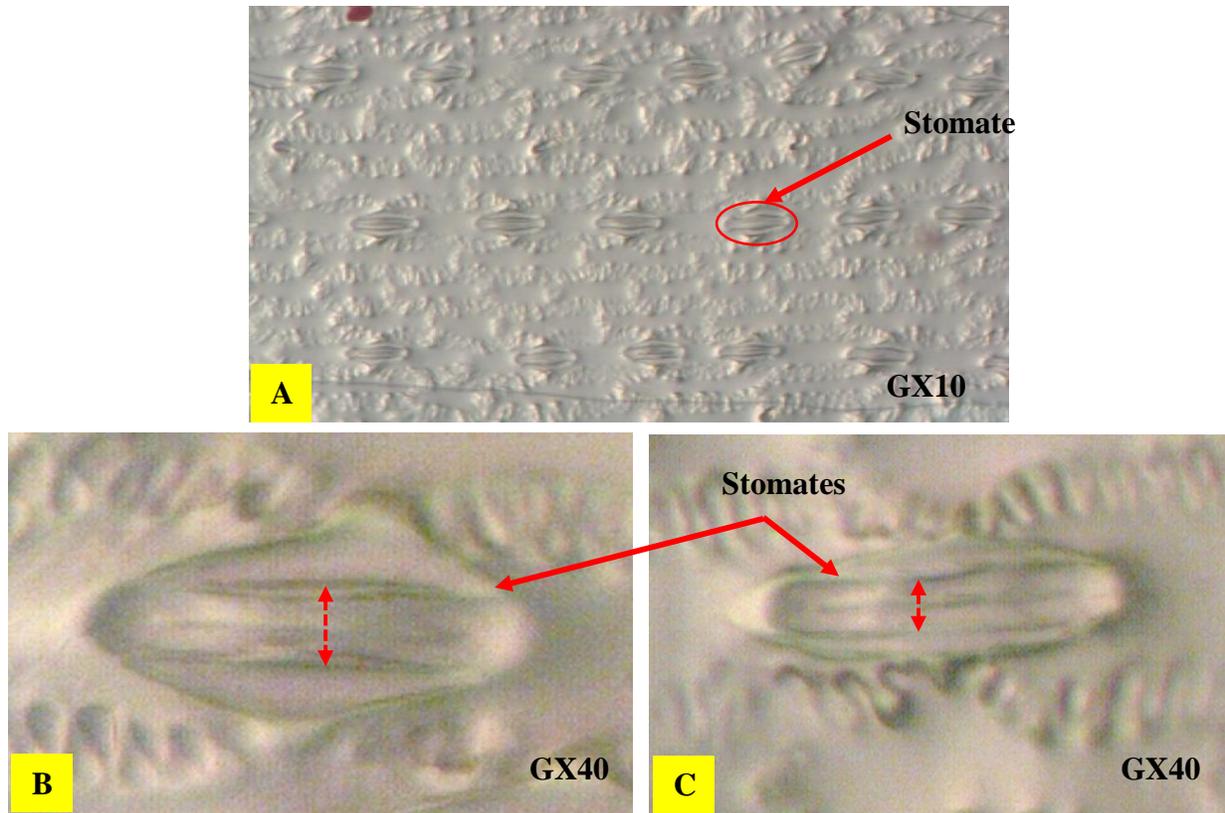


Figure 31: Vue microscopique des stomates

A : Vue générale des stomates ; B : Grande ouverture d'un stomate chez une plante non stressée ;
C : Faible ouverture d'un stomate chez une plante sous stress

2.1.2. Effet du stress hydrique sur les pigments photosynthétiques

L'évolution des pigments chlorophylliens dans les feuilles des lignées étudiées est consignée dans le tableau XIV suivant. Ce tableau révèle que le stress appliqué a eu dans l'ensemble un effet dépressif largement significatif ($p < 0,05$) sur l'ensemble des pigments photosynthétiques étudiés. En effet, les teneurs en chlorophylle a et b ont considérablement diminué sous l'effet de la sécheresse. Au niveau de la chlorophylle a (Chl a), l'analyse a révélé qu'en condition normale, la lignée L26 a enregistré la plus forte teneur (18,54 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches) tandis que la plus faible teneur (0,12 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches) a été observée dans les feuilles de la lignée L23. Sous stress hydrique, les plus fortes teneurs en chlorophylle a, ont été observées chez les plantes de la lignées L33 (6,43 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches) celles du témoins T02 (6,50 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches).

Au niveau de la chlorophylle b (Chl b), en condition normale, les concentrations ont également varié d'une lignée à l'autre. Les plantes de la lignée L23 ont obtenu la plus forte teneur avec 17,27

$\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches. Cette teneur est largement supérieure à celles des témoins T01, T02 et T03 qui ont présenté des teneurs respectives de 5,72 ; 3,76 et 2,53 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches. Par contre, la faible teneur a été enregistré chez les lignées L4, L21 et L27, avec des teneurs comprises entre 0,7 et 0,86 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches. En condition de déficit hydrique, les plus fortes quantités de Chl b ont été obtenues chez les plants de la lignée L33 avec une valeur moyenne de 2,93 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches, statistiquement identique à celle du témoin T02 (2,30 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches).

Concernant les chlorophylles totales, en condition d'apport d'eau, les plus faibles teneurs ont été enregistrées chez les lignées L4 (2,66 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), L21 (2,7 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) et L27 (3,15 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) tandis que la plus forte teneur a été observée chez la lignée L26 (24,56 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches). Les témoins T01, T02 et T03 ont enregistré les valeurs moyennes respectives de 21,8 ; 14,39 et 9,31 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches. Dans les conditions de manque d'eau, les lignées L21 et L23 ont enregistré les plus faibles valeurs qui ont été respectivement de 1,31 et 1,61 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches. La lignée L33 a enregistré la plus forte concentration avec une valeur de 9,36 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches. Cette teneur est significativement supérieure aux valeurs enregistrées chez les témoins T01 (5,02 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), T02 (8,81 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) et T03 (6,83 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches).

Le rapport chl a/chl b a été moins discriminant en condition de non stress. Seules les lignées L22 (0,007 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) et L2 (0,45 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) se sont démarquées avec les valeurs les plus faibles. Sous stress hydrique, les lignées L32, L29 et L7 ont présenté les plus faibles valeurs (respectivement 0,37 ; 0,41 et 0,45 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches). Le plus grand rapport (4,36 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) a été enregistré chez la lignée L21. Cette valeur est statistiquement supérieure à celles enregistrées au niveau des témoins T01 (0,38 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), T02 (2,82 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) et T03 (3,14 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches).

Tableau XIV: Variation des pigments photosynthétiques

Lignées	CHL a		CHL b		CHL t		CHLa/CHLb	
	Teneur en ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches)							
	NS	S	NS	S	NS	S	Ns	S
L1	4,51±1,8 ^{bc}	2,01±0,5 ^{cd}	2,15±1,2 ^b	1,57±0,1 ^f	6,67±1,9 ^{bc}	3,58±0,4 ^d	3,04±2,4 ^b	1,30±0,4 ^b
L2	4,24±1,4 ^{bc}	1,25±0,1 ^{ab}	9,39±1,9 ^e	0,59±0,1 ^b	13,64±2,7 ^{fg}	1,85±0,1 ^{ab}	0,45±0,1^a	2,20±0,7 ^d
L3	3,51±0,4 ^b	2,9±0,1 ^f	2,17±0,3 ^b	1,43±0,1 ^f	5,69±0,6 ^b	4,33±0,1 ^{ef}	1,62±0,06 ^b	2,03±0,2 ^c
L4	1,95±0,7 ^{ab}	2,61±0,1 ^e	0,70±0,1^a	0,97±0,1 ^{de}	2,66±0,2^a	3,58±0,1 ^d	2,83±0,5 ^b	2,69±0,1 ^e
L5	9,84±1,7 ^{fg}	3,64±0,1 ^h	4,75±1,6 ^{de}	1,63±0,1 ^f	14,59±3,1 ^g	5,27±0,2 ^{gh}	2,20±0,6 ^b	2,23±0,04 ^d
L6	11,36±2,8 ^g	3,73±0,2 ^h	3,59±1,1 ^d	2,23±0,3 ^g	14,95±3,8 ^g	5,97±0,1 ^h	3,21±0,4 ^b	1,70±0,3 ^{bc}
L7	9,31±3,2 ^f	3,55±0,4 ^h	3,51±1,5 ^d	1,16±0,2 ^h	12,83±4,5 ^f	4,71±0,3 ^{fg}	2,85±0,9 ^b	0,45±0,03^a
L8	7,14±0,1 ^d	1,66±0,1 ^{bc}	2,82±0,3 ^{cd}	0,97±0,4 ^{de}	9,96±0,9 ^{de}	2,63±0,3 ^c	2,53±0,03 ^b	1,91±0,8 ^{bc}
L9	3,58±0,3 ^b	2,91±0,1 ^f	1,30±0,2 ^{ab}	1,14±0,1 ^{ef}	4,88±0,4 ^{ab}	4,06±0,1 ^e	2,84±0,7 ^b	2,57±0,3 ^e
L10	13,50±2,1 ^{gh}	4,04±0,4 ^{hi}	4,88±1,1 ^{de}	1,46±0,2 ^f	18,39±2,5 ^h	5,51±0,6 ^h	2,87±0,7 ^b	2,77±0,07 ^e
L11	10,59±0,1 ^g	2,82±0,1 ^{ef}	3,76±1,5 ^{de}	1,09±0,1 ^e	14,35±0,3 ^g	3,92±0,1 ^{de}	2,81±0,1 ^b	2,58±0,2 ^e
L12	15,44±1,4 ^h	1,74±0,1 ^c	5,51±0,5 ^{de}	0,71±0,1 ^c	20,96±1,9 ^h	2,46±0,1 ^c	2,80±0,04 ^b	2,46±0,3 ^e
L13	7,77±1,1 ^{de}	2,83±0,1 ^{ef}	2,74±0,3 ^{cd}	1,17±0,1 ^{ef}	10,52±1,9 ^e	4,01±0,1 ^e	2,83±0,05 ^b	2,42±0,1 ^e
L14	8,89±1,6 ^{ef}	1,59±0,1 ^b	2,67±0,6 ^{cd}	0,65±0,1 ^{bc}	11,57±2,9 ^{ef}	2,24±0,1 ^b	3,39±0,7 ^b	2,49±0,4 ^e
L15	5,94±0,7 ^c	3,13±0,1 ^g	2,06±0,3 ^b	1,26±0,1 ^f	8,01±1,4 ^c	4,39±0,1 ^f	2,54±0,4 ^b	1,98±0,6 ^c
L16	6,81±1,8 ^d	2,07±0,1 ^{cd}	2,70±0,5 ^{cd}	1,13±0,4 ^e	9,51±2,3 ^d	3,20±0,4 ^{cd}	2,86±0,1 ^b	2,72±0,3 ^e
L17	9,55±0,8 ^f	2,35±0,1 ^d	3,34±0,3 ^d	0,87±0,1 ^{cd}	12,89±1,8 ^f	3,22±0,1 ^{cd}	2,77±0,07 ^b	2,47±0,3 ^e
L18	7,75±0,5 ^{de}	1,73±0,1 ^c	2,79±0,2 ^{cd}	0,70±0,1 ^c	10,55±0,9 ^e	2,44±0,1 ^{bc}	2,70±0,1 ^b	2,56±0,2 ^e
L19	9,90±1,1 ^{fg}	3,07±0,1 ^{fg}	3,66±0,2 ^{de}	1,20±0,1 ^f	13,56±1,4 ^{fg}	4,28±0,1 ^{ef}	2,86±0,04 ^b	2,35±0,2 ^e
L20	6,37±0,4 ^{cd}	2,12±0,1 ^{cd}	2,22±0,2 ^{bc}	0,91±0,1 ^d	8,60±0,6 ^{cd}	3,03±0,1 ^{cd}	2,43±0,1 ^b	3,76±0,1 ^h
L21	1,91±0,5 ^{ab}	1,04±0,1^a	0,78±0,0^a	0,27±0,1^a	2,70±0,2^a	1,31±0,1^a	2,71±0,07 ^b	4,36±0,02ⁱ
L22	7,88±0,5 ^{de}	2,17±0,1 ^{cd}	2,91±0,2 ^{cd}	0,49±0,0 ^{ab}	10,80±0,5 ^e	2,67±0,1 ^c	0,007±0,005^a	1,62±0,06 ^{bc}
L23	0,12±0,1^a	0,99±0,1 ^a	17,27±0,7^f	0,61±0,0 ^b	17,39±0,2 ^{gh}	1,61±0,1^a	3,02±0,9 ^b	1,96±0,1 ^c
L24	7,99±1,5 ^{de}	1,72±0,1 ^c	2,72±0,9 ^{cd}	0,88±0,0 ^d	10,72±0,9 ^e	2,60±0,1 ^c	2,89±0,03 ^b	3,79±0,9 ^h

L25	11,77±0,8 ^g	4,55±0,1 ⁱ	4,06±0,3 ^{de}	1,25±0,3 ^f	15,84±1,2 ^g	5,80±0,3 ^h	3,11±0,4 ^b	2,95±0,5 ^f
L26	18,54±1,2ⁱ	3,9±0,1 ^{hi}	6,01±0,2 ^{de}	1,37±0,2 ^f	24,56±0,7ⁱ	5,37±0,1 ^h	2,64±0,3 ^b	2,24±1,1 ^d
L27	2,28±0,2 ^{ab}	1,91±0,6 ^c	0,86±0,1^a	0,94±0,2 ^d	3,15±0,2^a	2,86±0,3 ^{cd}	2,65±0,1 ^b	2,07±0,07 ^c
L28	8,92±0,6 ^{ef}	2,29±0,1 ^d	3,37±0,2 ^d	0,84±0,1 ^{cd}	12,29±0,4 ^{ef}	3,14±0,0 ^{cd}	2,63±0,04 ^b	2,4±0,01 ^e
L29	7,59±0,5 ^{de}	4,19±0,1 ^{hi}	2,79±0,7 ^{cd}	1,24±0,1 ^f	10,39±0,2 ^e	5,43±0,1 ^h	2,82±0,05 ^b	0,41±0,07^a
L30	12,80±0,7 ^g	5,33±0,2 ^{ij}	5,76±0,6 ^{de}	2,11±0,1 ^g	18,56±0,4 ^h	7,45±0,3 ⁱ	2,80±0,5 ^b	2,19±0,1 ^d
L31	13,51±0,1 ^{gh}	2,90±0,1 ^f	5,13±0,1 ^{de}	1,20±0,1 ^f	18,65±0,5 ^h	4,10±0,1 ^e	2,96±0,1 ^b	2,62±0,01 ^e
L32	8,27±0,1 ^e	3,54±0,6 ^h	2,92±0,9 ^{cd}	1,43±0,1 ⁱ	11,20±0,5 ^e	4,97±0,3 ^g	2,26±0,2 ^b	0,37±0,02^a
L33	11,63±0,6 ^g	6,43±0,7^j	4,22±0,6 ^{de}	2,93±0,3^g	15,85±0,3 ^g	9,36±1,1^j	2,59±0,03 ^b	2,55±0,01 ^e
L34	8,82±0,8 ^{ef}	3,13±0,1 ^g	2,97±0,9 ^{cd}	1,19±0,1 ^f	11,80±0,5 ^{ef}	4,32±0,1 ^{ef}	2,77±0,04 ^b	3,01±0,03 ^f
L35	6,31±1,7 ^{cd}	3,03±0,1 ^{fg}	4,99±3,3 ^{de}	1,44±0,1 ^{hi}	11,31±2,9 ^e	4,47±0,2 ^f	2,72±0,03 ^b	3,36±0,1 ^g
L36	12,32±0,5 ^g	2,06±0,1 ^{cd}	4,74±0,2 ^{de}	0,80±0,1 ^{cd}	17,06±0,7 ^g	2,87±0,1 ^{cd}	2,22±0,1 ^b	2,52±0,1 ^e
L37	10,83±0,8 ^g	2,40±0,1 ^{de}	3,91±0,4 ^{de}	0,79±0,1 ^{cd}	14,74±0,4 ^g	3,19±0,1 ^{cd}	2,89±0,1 ^b	2,48±0,2 ^e
T01	16,08±0,4 ^h	3,47±0,5 ^{gh}	5,72±0,1 ^{de}	1,55±0,1 ^j	21,80±0,5 ^h	5,02±0,3 ^g	2,80±0,01 ^b	0,38±0,06^a
T02	10,62±0,1 ^g	6,50±0,4^j	3,76±0,3 ^{de}	2,30±0,1^g	14,39±0,8 ^g	8,81±0,5 ^{ij}	2,82±0,02 ^b	2,82±0,06 ^{ef}
T03	6,78±0,3 ^d	5,18±0,1 ^{ij}	2,53±0,2 ^c	1,64±0,1 ^f	9,31±0,8 ^d	6,83±0,1 ^{hi}	2,68±0,2 ^b	3,14±0,07 ^{fg}
F	77,37	36,5	568,74	32,89	122,33	31,28	2,76	15,86
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Les moyennes suivies de la même lettre dans une colonne, sont statistiquement identiques à 5 % de probabilité selon le test de Newman-Keuls. **P** : Probabilité approximative des tests ; **F** : constance de Fischer ; **CHL a** : chlorophylle a ; **CHL b** : chlorophylle b ; **CHL t** : chlorophylle totale ; **NS** : non stressé ; **S** : stressé ; **µg** : microgramme

2.1.2. Effet du stress hydrique sur les paramètres biochimiques

Le tableau XV présente les moyennes des composés biochimiques contenus dans les feuilles de maïs en fonction du stress hydrique appliqué. Une différence hautement significative de l'évolution de ces composés a été observée ($p < 0,05$) entre les lignées stressées et non stressées. En effet, les résultats ont révélé de plus fortes valeurs chez les plantes stressées par rapport aux plantes non stressées, sur l'ensemble des composés étudiés.

Dans les conditions normales d'apport d'eau, la lignée L29 (608,69 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches) a présenté la plus forte teneur en protéines totales tandis que la plus faible valeur (500,1 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches) a été enregistrée chez la lignée L1. Les concentrations des témoins T01, T02 et T03 ont été respectivement de 594,09, 551,01 et 547,58 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches. En condition de stress, il a été observé que le manque d'eau a significativement stimulé la teneur en protéines des lignées. La même lignée L29 a présenté la plus grande concentration en protéines (669,66 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches) alors que la plus faible concentration a été enregistrée chez la lignée L12 (527,09 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches). Les témoins T01, T02 et T03 ont enregistré les concentrations moyennes respectives de 629,98, 644,57 et 639,93 $\mu\text{g/g}$ feuilles fraîches et aux autres lignées.

Concernant la synthèse des composés phénoliques dans les feuilles des lignées non stressées, les plus fortes teneurs ont été observées avec les lignées L27 (80,71 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), L15 (77,48 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), L20 (73,07 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), L11 (71,69 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches) et L25 (70,71 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches). Ces teneurs ont été supérieures à celles des témoins T01, T02 et T03 qui ont présenté des valeurs respectives de 39,64, 40,41 et 41,94 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches. La lignée L10 a par ailleurs, enregistré la plus faible teneur en composés phénoliques. Toutefois, au niveau des plantes stressées, la lignée L29 a montré la plus forte teneur (356,15 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches), significativement supérieure aux témoins T01, T02 et T03 qui ont obtenu des concentrations moyennes respectives de 106,15 ; 95,94 et 91,94 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches. De plus, la plus faible teneur en composés phénoliques a été enregistré chez la lignée L1 avec une concentration moyenne de 45,07 $\mu\text{g.g}^{-1}$ feuilles fraîches.

Tableau XV: Variation de la teneur en composés biochimiques

LIGNÉES	Protéines		Composés phénoliques		Sucres totaux		Proline (mmol/g feuilles fraîches)	
	Teneur en (µg/g feuilles fraîches)							
	NS	S	NS	S	NS	S	NS	S
L1	500,10±3,6^a	621,71±2,9 ^{cd}	34,56±4,4 ^{de}	45,07±3,2^a	25,73±2,4 ^c	63,43±3,3 ^{bc}	0,82±0,0b	0,87±0,1bc
L2	535,95±3,1 ^{de}	601,07±2,5 ^c	27,58±0,7 ^{bc}	56,87±0,6 ^b	21,67±2,5 ^d	77,60±6,4 ^{cd}	1±0,0b	0,44±0,1bc
L3	550,06±2,5 ^{de}	634,73±1,3 ^{cd}	23,64±1,3 ^{ab}	93,69±1,8 ^f	29,06±1,4 ^{cd}	98,81±1,7 ^e	0,57±0,0a	1,33±0,1d
L4	540,33±1,9 ^{de}	620,12±2,8 ^{cd}	36,05±0,9 ^{de}	112,92±1,2 ^{hi}	29,20±1,2 ^{cd}	113,10±1,3 ^{ef}	0,63±0,0a	0,66±0,1bc
L5	512,88±3,5 ^b	603,61±0,5 ^c	38,61±0,6 ^{de}	113,7±0,1 ^{hi}	48,89±3,2 ^{ef}	139,35±2,1 ^g	0,37±0,0a	0,52±0,1bc
L6	537,66±1,2 ^{de}	625,84±0,9 ^{cd}	34,10±1,8 ^{de}	97,07±1,1 ^{fg}	42,02±0,8 ^{de}	146,67±3,8 ^{gh}	0,40±0,0a	0,35±0,1bc
L7	557,68±4,1 ^e	613,14±4,4 ^{cd}	28,97±0,8 ^c	130,87±2,9 ^j	35,67±1,7 ^d	88,91±2,2 ^{de}	1,27±0,2b	0,55±0,1bc
L8	503,73±3,6 ^{ab}	597,58±3,9 ^{bc}	32,10±2,5 ^d	98,92±1,5 ^{fg}	48,04±2,5 ^e	75,47±4,8 ^c	0,91±0,0b	0,31±0,1b
L9	513,64±2,4 ^b	595,04±2,3 ^{bc}	27,48±0,6 ^{bc}	72,61±0,3 ^c	39,25±3,2 ^{de}	131,71±0,7 ^{fg}	0,56±0,0a	0,19±0,1ab
L10	529,66±1,4 ^{de}	579,80±2,4 ^b	19,79±0,8^a	65,38±1,9 ^{bc}	34,71±4,4 ^d	105,57±1,7 ^{ef}	0,99±0,0b	0,33±0,1b
L11	533,09±1,9 ^{de}	621,08±2,9 ^{cd}	71,69±2,8^g	71,53±3,7 ^c	44,20±2,4 ^{de}	82,60±0,8 ^{de}	0,61±0,0a	0,42±0,1bc
L12	545,86±4,5 ^{de}	527,09±2,5^a	47,12±0,9 ^{ef}	61,28±4,6 ^b	47,59±0,1 ^e	75,77±1,7 ^c	0,58±0,0a	0,17±0,1a
L13	529,46±4,3 ^{de}	642,35±1,7 ^d	39,12±0,9 ^{de}	134,56±2,1 ^j	23,44±0,7 ^{bc}	68,35±2,1 ^{bc}	0,43±0,0a	0,38±0,1bc
L14	517,07±4,2 ^{bc}	636±3,1 ^{cd}	31,64±0,9 ^{cd}	71,74±3,2 ^c	11,96±1,9^a	91,94±3,7 ^{de}	0,57±0,0a	1,21±0,0cd
L15	523,55±1,5 ^{cd}	656±1,5 ^d	77,48±1,8^g	61,69±4,8 ^b	29,43±4,7 ^{cd}	87,29±2,2 ^{de}	0,49±0,0a	0,46±0,1bc
L16	546,43±2,7 ^{de}	648,07±3,2 ^d	35,28±0,9 ^{de}	82,20±2,9 ^d	18,61±1,6 ^{ab}	46,49±0,6^a	0,38±0,0a	0,40±0,1bc
L17	549,10±1,5 ^{de}	625,52±3,8 ^{cd}	40,66±0,9 ^e	96,61±0,2 ^{fg}	40,69±0,6 ^{de}	140,24±2,2 ^g	0,36±0,0a	0,35±0,1bc
L18	560,73±1,4 ^e	638,22±2,5 ^{cd}	36,56±0,6 ^{de}	51,17±0,2 ^{ab}	18,02±1,4 ^{ab}	76,95±2,1 ^c	0,66±0,1ab	0,65±0,1bc
L19	557,49±3,5 ^e	648,38±3,9 ^d	45,58±0,9 ^{ef}	102,87±0,2 ^g	35,04±1,7 ^d	49,73±3,2 ^{ab}	0,76±0,0b	0,31±0,1b
L20	525,46±4,6 ^d	650,29±2,1 ^d	73,07±2,6^g	139,58±4,5 ^{jk}	42,94±4,9 ^{de}	93,20±1,3 ^{de}	0,60±0,0a	0,48±0,1bc
L21	539,00±2,8 ^{de}	629,33±2,3 ^{cd}	25,17±1,9 ^b	50,6±2,1 ^{ab}	38,44±3,2 ^{de}	117,64±3,1 ^f	0,63±0,0a	0,61±0,1bc
L22	534,42±1,5 ^{de}	629,97±3,3 ^{cd}	56,25±1,8 ^f	86,8±0,9 ^e	91,61±3,9 ^h	193,19±2,6 ^{hi}	0,84±0,0b	0,51±0,1bc

L23	545,67±0,9 ^{de}	606,15±1,2 ^{cd}	39,48±1,5 ^{de}	85,6±1,9 ^{de}	85,66±2,2 ^h	168,05±2,8 ^h	1,06±0,0 ^b	0,49±0,1 ^{bc}
L24	522,22±3,7 ^c	628,70±3,5 ^{cd}	42,92±4,5 ^{ef}	64,6±1,1 ^{bc}	73,70±1,8 ^h	58,60±1,2 ^b	1,72±0,2 ^{bc}	1,07±0,1 ^{bc}
L25	562,64±1,6 ^e	661,40±1,9 ^{de}	70,71±3,7^g	123,2±3,9 ^{ij}	55,13±0,3 ^{ef}	182,45±1,1 ^{hi}	0,83±0,0 ^b	0,42±0,1 ^{bc}
L26	543,19±2,8 ^{de}	663,94±2,7 ^{de}	38,46±1,1 ^{de}	104,66±2,2 ^{gh}	72,44±2,6 ^{gh}	86,96±1,5 ^{de}	1,75±0,1 ^c	0,87±0,2 ^{bc}
L27	602,34±3,5 ^{ef}	653,15±3,5 ^d	80,71±0,9^g	142,35±0,3 ^k	80,86±4,3 ^h	197,40±3,9ⁱ	0,77±0,1 ^b	2,45±0,1^e
L28	598,53±1,4 ^{ef}	615,68±1,4 ^{cd}	60,30±2,8 ^{fg}	76,56±0,2 ^{cd}	169,82±2,9ⁱ	117,86±1,2 ^f	0,78±0,1 ^b	0,44±0,1 ^{bc}
L29	608,69±4,3^f	669,66±1,2^e	40±0,5 ^e	356,15±3,2^l	66,91±1,6 ^{gh}	144,34±1,4 ^{gh}	0,78±0,1 ^b	0,67±0,1 ^{bc}
L30	600,44±2,4 ^{ef}	663,94±3,1 ^{de}	41,69±1,1 ^e	102,92±3,6 ^g	84,04±0,3 ^h	98,14±0,3 ^e	0,61±0,0 ^a	0,37±0,1 ^{bc}
L31	553,68±0,9 ^{de}	626,16±1,6 ^{cd}	45,07±0,7 ^{ef}	107,33±3,3 ^h	73,44±0,6 ^h	84,19±3,8 ^{de}	0,86±0,1 ^b	0,86±0,1 ^{bc}
L32	555,97±3,6 ^e	656±2,4 ^d	60,46±3,5 ^{fg}	62,56±4,6 ^b	56,27±1,3 ^f	93,94±2,4 ^{de}	0,67±0,0 ^{ab}	0,45±0,1 ^{bc}
L33	582,66±4,5 ^{ef}	646,80±1,2 ^d	48,15±0,7 ^f	87,58±0,6 ^e	50,03±4,3 ^{ef}	95,04±4,6 ^e	0,66±0,0 ^{ab}	0,42±0,1 ^{bc}
L34	523,36±4,1 ^{cd}	656±3,6 ^d	31,12±0,7 ^{cd}	106,15±2,3 ^{gh}	52,54±1,6 ^{ef}	8,74±1,3 ^b	0,67±0,0 ^{ab}	0,50±0,2 ^{bc}
L35	548,34±1,8 ^{de}	647,75±1,4 ^d	49,53±2,4 ^f	120,87±1,2 ⁱ	81,90±0,6 ^h	93,97±3,1 ^{de}	0,53±0,0 ^a	0,47±0,1 ^{bc}
L36	592,93±2,9 ^{ef}	654,10±1,3 ^d	54,61±2,7 ^f	135,79±1,2 ^j	64,62±2,9 ^{fg}	169,71±2,2 ^h	0,75±0,0 ^b	0,45±0,1 ^{bc}
L37	558,25±2,8 ^e	651,88±4,2 ^d	34,56±0,8 ^{de}	131,07±0,3 ^j	78,43±1,4 ^h	192,53±0,9 ^{hi}	0,37±0,0 ^a	2,27±0,1^e
T01	594,09±1,1 ^{ef}	622,98±4,7 ^{cd}	39,64±0,4 ^{de}	106,15±2,3 ^{gh}	39,40±2,8 ^{de}	81,60±1,7 ^d	0,59±0,1 ^a	0,69±0,1 ^{bc}
T02	551,01±1,9 ^{de}	644,57±3,6 ^d	40,41±1,5 ^e	95,94±2,6 ^{fg}	66,02±0,8 ^g	99,07±1,1 ^e	0,47±0,1 ^a	0,62±0,1 ^{bc}
T03	547,58±4,4 ^{de}	636,95±2,9 ^{cd}	41,94±0,3 ^e	91,94±3,7 ^{ef}	73,77±1,2 ^h	97,59±4,8 ^e	1,01±0,1 ^b	1,17±0,1 ^c
F	5,71	19,33	131,11	24,03	34,06	48,81	6,69	2,27
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Dans une colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité selon le test de Student-Newman-Keuls.

P : Probabilité approximative des tests ; F : constance de Fischer ; NS : non stressé ; S : stressé

En condition de non stress, la teneur en sucre a considérablement varié dans les feuilles des lignées (de 11,96 à 169,82 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches). La plus forte teneur a été enregistrée avec la lignée L28 (169,82 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches). Cette valeur est très supérieure à celle du témoin T01 qui était de 39,40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches, qui elle-même a largement été inférieure aux valeurs enregistrées chez les témoins T02 (66,02 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches) et T03 (73,77 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches). Par contre, la plus faible concentration a été obtenue chez la lignée L14 (11,96 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches). En condition de stress, le déficit hydrique a provoqué une synthèse accrue des sucres chez les lignées. La teneur la plus élevée a été observée chez la lignée L27 avec 197,40 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches tandis que la lignée L16 a enregistré la plus faible teneur (46,49 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches). Les témoins T01, T02 et T03 ont enregistré de valeurs moyennes respectives de 81,6, 99,07 et 97,59 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ feuilles fraîches.

Pour la teneur en proline, chez les plantes non stressées, la plus forte teneur a été observée avec la lignée L26 (1,75 mmol/g feuilles fraîches). Cette teneur a largement été supérieure à celles des témoins T01, T02 et T03 qui ont présenté des teneurs respectives de 0,59, 0,47 et 1,01 mmol/g feuilles fraîches. Sous stress hydrique, les plus fortes concentrations de proline a été observée chez les lignées L27 (2,45 mmol/g feuilles fraîches) et L37 (2,27 mmol/g feuilles fraîches). La plus faible teneur a été enregistrée avec la lignée L12 (0,17 mmol/g feuilles fraîches). Les témoins ont présenté des concentrations suivantes : T01 (0,69 mmol/g feuilles fraîches), T02 (0,62 mmol/g feuilles fraîches) et T03 (1,17 mmol/g feuilles fraîches).

2.1.3. Variation des teneurs en enzymes

Le Tableau XVI présente l'effet du stress hydrique sur l'activité de l'ascorbate peroxydase et de la catalase dans les feuilles des plantes de maïs. Une différence significative des teneurs moyennes en ces enzymes a été observée entre les lignées ($p < 0,05$). De plus, une forte activité enzymatique des lignées a été enregistrée en conditions de déficit hydrique contrairement aux conditions normales.

En condition normale d'apport d'eau, la plus forte activité en ascorbate peroxydase (APx) a été observée chez la lignée L11 (1877,14 mol/min/g feuilles fraîches) tandis que la plus faible valeur a été observée chez la lignée L3 avec 1462,28 mol/min/g feuilles fraîches. Les témoins T01, T02 et T03 ont enregistré des valeurs moyennes respectives de 1485,42, 1499,14 et 1470 mol/min/g

feuilles fraîches. Par contre, en conditions de stress, les plus fortes activités en APx ont été enregistrées chez les lignées L6, L7 et L9, avec des teneurs moyennes respectives de 2351,14 ; 2327,14 et 2362,28 mol/min/g feuilles fraîches. Cette forte activité peroxydasique observée chez ces lignées est significativement supérieure à celle enregistrée chez les témoins T01, T02 et T03 avec des valeurs respectives de 1772,57, 1768,28, 1734,25 mol/min/g feuilles fraîches.

L'activité de la catalase a été très variée chez les lignées en condition de non stress. La lignée L3, avec une teneur moyenne de 22073,39 mol/min/g feuilles fraîches a présenté la plus forte activité. Cette teneur est largement supérieure à celles des témoins T03 (17302,75 mol/min/g feuilles fraîches), T01 (9100,91 mol/min/g feuilles fraîches) et T02 (7009,17 mol/min/g feuilles fraîches). En conditions de déficit hydrique, la plus forte activité en catalase a été observée chez les lignées L10 et L13 avec 24844,03 et 23100,91 mol/min/g feuilles fraîches. Ces valeurs demeurent également supérieures à celles des témoins T01, T02 et T03 qui sont respectivement 12275,22, 12733,93 et 8183,48 mol/min/g feuilles fraîches.

Tableau XVI: Variation des activités enzymatiques

LIGNÉES	Activité enzymatique (mol/min/g feuilles fraîches)			
	Acide Peroxydase		Catalase	
	NS	S	NS	S
L1	1764,85±2,5 ^{ef}	1919,14±3,1 ^{ab}	17247,70±2,8 ^e	11871,55±3,9 ^{bc}
L2	1574,57±1,7 ^d	1590,85±2,1^a	16972,47±2,1 ^e	8642,20±2,6 ^b
L3	1462,28±2,2^a	2161,71±1,3 ^{ab}	22073,39±4,7^f	9009,17±4,4 ^b
L4	1599,42±1,7 ^{de}	2190±3,1 ^{ab}	10477,06±1,3 ^{cd}	13302,75±2,9 ^{bc}
L5	1630,28±4,3 ^e	2137,71±3,8 ^{ab}	8697,24±2,6 ^c	11522,93±3,7 ^{bc}
L6	1536,85±2,8 ^c	2351,14±2,4^b	11009,17±3,1 ^{cd}	8532,11±4,2 ^b
L7	1622,57±1,8 ^e	2327,14±4,9^b	8917,43±1,6 ^c	12550,45±4,5 ^{bc}
L8	1582,28±1,7 ^{de}	2111,14±4,7 ^{ab}	18201,83±1,8 ^e	14165,13±1,8 ^{bc}
L9	1589,14±4,5 ^{de}	2362,28±3,3^b	13724,77±3,4 ^{de}	12715,59±1,2 ^{bc}
L10	1677,42±3,2 ^e	2195,14±3,8 ^{ab}	10220,18±1,3 ^{cd}	24844,03±0,7^e
L11	1877,14±1,8^f	2114,57±2,3 ^{ab}	16972,47±4,4 ^e	14807,33±3,8 ^c
L12	1788±3,6 ^{ef}	2124,85±2,5 ^{ab}	14917,43±1,9 ^e	12550,45±1,2 ^{bc}
L13	1767,42±2,4 ^{ef}	2092,28±2,1 ^{ab}	15779,81±3,9 ^e	23100,91±2,8^e
L14	1635,42±3,6 ^e	2282,57±3,4 ^{ab}	19706,42±2,8 ^e	17467,88±3,8 ^d
L15	1566,85±4,5 ^{cd}	1925,14±3,2 ^{ab}	12311,92±4,2 ^d	15119,26±1,7 ^c
L16	1592,57±1,8 ^{de}	2178±2,8 ^{ab}	16110,09±2,1 ^e	11100,91±2,4 ^{bc}
L17	1686±1,4 ^e	2017,71±3,9 ^{ab}	10477,06±1,5 ^{cd}	12587,15±3,7 ^{bc}

L18	1724,57±1,7 ^{ef}	2017,71±3,8 ^{ab}	8733,94±3,2 ^c	16311,92±4,3 ^{cd}
L19	1743,42±2,5 ^{ef}	2227,71±2,8 ^{ab}	17100,91±1,9 ^e	10990,82±3,4 ^{bc}
L20	1722±1,6 ^{ef}	1950,85±2,5 ^{ab}	17908,25±3,8 ^e	9963,30±1,4 ^{bc}
L21	1659,42±4,2 ^e	1989,42±3,9 ^{ab}	10220,18±3,9 ^{cd}	12697,24±2,1 ^{bc}
L22	1666,28±4,5 ^e	2160±1,2 ^{ab}	14403,66±3,3 ^e	7339,44±1,3 ^{ab}
L23	1630,28±3,3 ^e	1899,42±2,1 ^{ab}	21504,58±3,3 ^e	6770,64±3,8 ^{ab}
L24	1572±2,2 ^{cd}	2079,42±1,4 ^{ab}	14403,66±1,9 ^e	13853,21±1,8 ^{bc}
L25	1733,14±3,5 ^{ef}	1787,14±4,5 ^{ab}	20990,82±4,8 ^e	16220,18±2,1 ^{cd}
L26	1612,28±2,9 ^e	1908,85±3,9 ^{ab}	9908,25±1,8 ^{cd}	5889,90±3,3^a
L27	1646,57±1,6 ^e	2104,28±3,9 ^{ab}	12458,71±3,8 ^d	11981,65±4,4 ^{bc}
L28	1660,28±3,7 ^e	2004±1,1 ^{ab}	8311,92±4,1 ^{bc}	10311,92±2,4 ^{bc}
L29	1537,71±4,8 ^c	2135,14±2,5 ^{ab}	5027,52±1,9^a	9137,61±2,6 ^b
L30	1656,85±2,3 ^e	2070±2,9 ^{ab}	12403,66±2,3 ^d	7376,14±3,8 ^{ab}
L31	1668,85±4,2 ^e	1577,14±3,1^a	10513,76±4,8 ^{cd}	9302,75±1,9 ^{bc}
L32	1596±1,6 ^{de}	1854±3,4 ^{ab}	18366,97±3,9 ^e	10972,47±2,4 ^{bc}
L33	1592,57±2,4 ^{de}	1926,85±1,1 ^{ab}	18422,01±1,1 ^e	10752,29±2,8 ^{bc}
L34	1522,28±3,6 ^{bc}	2070±3,1 ^{ab}	8128,44±2,7 ^{bc}	11009,17±2,1 ^{bc}
L35	1458,85±4,7^a	2044,28±2,3 ^{ab}	5981,65±4,1 ^{ab}	11394,49±3,9 ^{bc}
L36	1500±2,7 ^{b^c}	2065,71±3,6 ^{ab}	10275,22±1,2 ^{cd}	16385,32±4,7 ^{cd}
L37	1625,14±1,7 ^e	1945,71±2,3 ^{ab}	10330,27±2,7 ^{cd}	8770,64±3,5 ^b
T01	1485,42±4,9 ^b	1772,57±2,7 ^{ab}	9100,91±2,8 ^c	12275,22±3,8 ^{bc}
T02	1499,14±2,8 ^{bc}	1768,28±2,2 ^{ab}	7009,17±3,6 ^b	12733,93±3,8 ^{bc}
T03	1470±2,4 ^{ab}	1734,85±3,7 ^{ab}	17302,75±1,6 ^e	8183,48±2,8 ^b
F	7,25	7,37	2,24	8,12
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Dans une colonne, les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas différentes significativement à 5 % de probabilité selon le test de Student-Newman-Keuls. **P** : Probabilité approximative des tests ; **F** : constance de Fischer ; **NS** : non stressé ; **S** : stressé.

2.1.4. Structuration des lignées au moyen des paramètres biochimiques

2.1.4.1. Choix des axes

L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a transformé les 10 paramètres mesurés en autant de facteurs ou Composantes Principales (Axes) avec des valeurs propres variant de 0,003 (axe 10) à 2,53 (axe 1). Les 2 premiers axes du plan expriment 46,72 % (25,301 pour l'axe 1 et 21,419 % pour l'axe 2) de l'inertie totale du jeu de données (tableau XVII). En effet, 46,72 % de la variabilité totale du nuage des variables est représentée dans ce plan (Axe 1- Axe 2). C'est un pourcentage relativement moyen mais supérieur à la valeur référence de 38,09 %, la variabilité expliquée par ce plan est donc significative (cette inertie de référence est le quantile 0.95-quantile de la distribution des pourcentages d'inertie obtenue en simulant 4101 jeux de données aléatoires de dimensions

comparables sur la base d'une distribution normale). Une estimation du nombre pertinent d'axes à interpréter suggère de restreindre l'analyse à la description des 2 premiers axes.

Tableau XVII: Valeurs propres et pourcentage de variance des axes de l'analyse des composantes Principales

Composantes	Valeurs propres initiales		
	Total	% de la variance	% cumulé
1	2,530	25,301	25,301
2	2,142	21,419	46,720
3	1,426	14,264	60,984
4	1,175	11,751	72,735
5	0,819	8,194	80,929
6	0,727	7,272	88,201
7	0,595	5,953	94,154
8	0,437	4,368	98,521
9	0,145	1,449	99,970
10	0,003	0,030	100,000

2.1.4.2. Contribution des caractères à la réalisation des axes

L'examen des coordonnées des variables (Tableau XIII) a montré que les paramètres photosynthétiques (Chlorophylle a et Chlorophylle t) ont activement concouru à la construction du premier axe. Quant au second axe, il a été élaboré par le rapport Chlorophylle a/Chlorophylle b ainsi que des paramètres biochimiques tels que les sucres totaux et la proline.

Tableau XVIII: Contribution des paramètres à la réalisation des axes

Paramètres	Axe 1	Axe 2
CHLa	0,9	-0,022
CHLb	0,516	-0,604
CHLa/CHLb	-0,146	0,74
CHLt	0,897	-0,084
PROT	0,566	0,408
CPh	0,408	0,478
ST	0,006	0,7
AsP	-0,271	-0,034
CAT	-0,259	-0,264
PROL	0,012	0,716

CHLa : Chlorophylle a ; CHLb : Chlorophylle b ; CHLa/CHLb : Chlorophylle a / Chlorophylle b ; CHLt : Chlorophylle totales ; PROT : Protéines ; CPh : Composés phénoliques ; ST : Sucres totaux ; AsP : Ascorbate peroxydase ; CAT : Catalase

2.1.4.3. Projection des variables sur le cercle de corrélation

La projection des variables dans le plan factoriel (Figure 32) a montré que dans l'ensemble, toutes les variables ont contribué à la discrimination des lignées étudiées à l'exception des composés enzymatiques que sont la catalase (CAT) et l'ascorbate peroxydase (AsP). Par ailleurs, les pigments photosynthétiques ainsi que les protéines sont fortement et positivement corrélées avec la première composante (axe 1), tandis que le rapport chlorophylle a/chlorophylle b, les sucres totaux, la proline ainsi que les composés phénoliques l'ont été avec la seconde composante (axe 2).

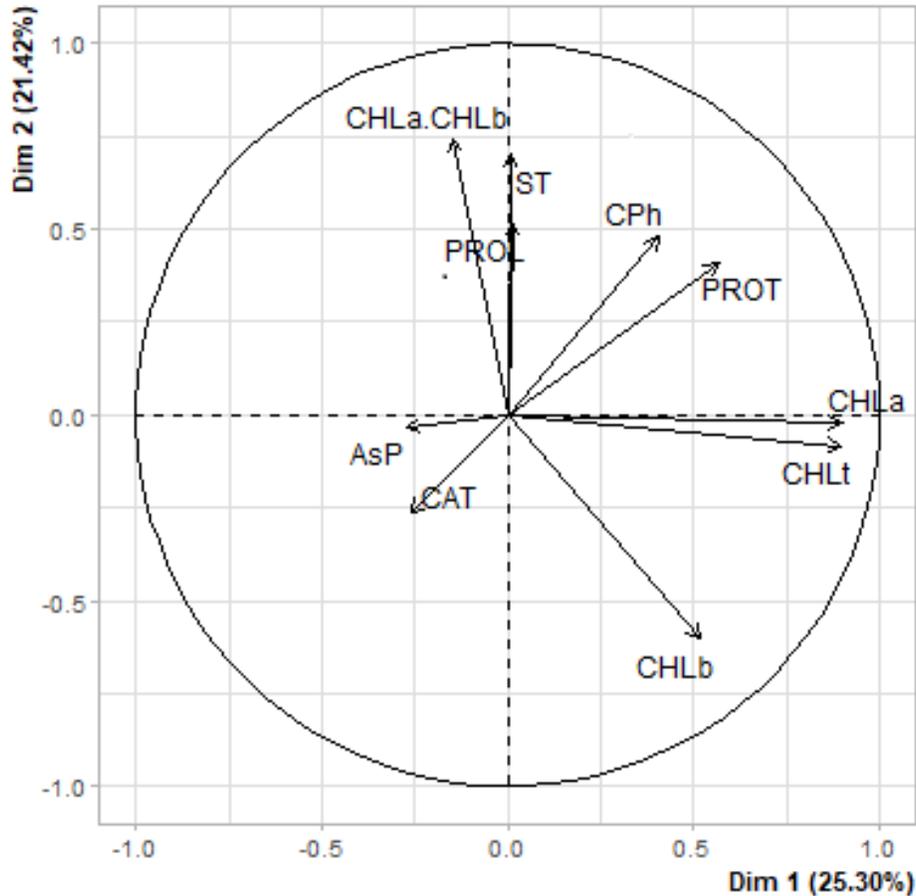


Figure 32: Cercle de corrélation des variables biochimiques

2.1.4.4. Projection des lignées dans le plan factoriel

La Figure 33 présente la projection des lignées sur le plan factoriel. Cette figure permet de distinguer 4 groupes de lignées. Le groupe 1 (G1) comprend 24 lignées (L1, L2, L3, L4, L6, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20, L21, L23, L24, L28, L31, L34 et L36). Ce groupe est caractérisé par des lignées ayant de fortes teneurs en composés enzymatiques et de faibles concentrations en pigments photosynthétiques et en composés phénoliques. Le groupe 2 (G2) constitué des lignées L22, L27 et L37 se distingue par de fortes valeurs en sucres totaux, en proline et en rapport chla/chlb. Le groupe 3 (G3) comprend les lignées L7, L32, L35 et le témoin T01. Il se caractérise par des teneurs élevées en chlorophylle b et un faible rapport chla/chlb. Le groupe 4 (G4) regroupe les lignées L25, L26, L29, L30, L33, et les témoins T02, T03 avec de fortes concentrations en pigments chlorophylliens et de faibles teneurs en composés enzymatiques.

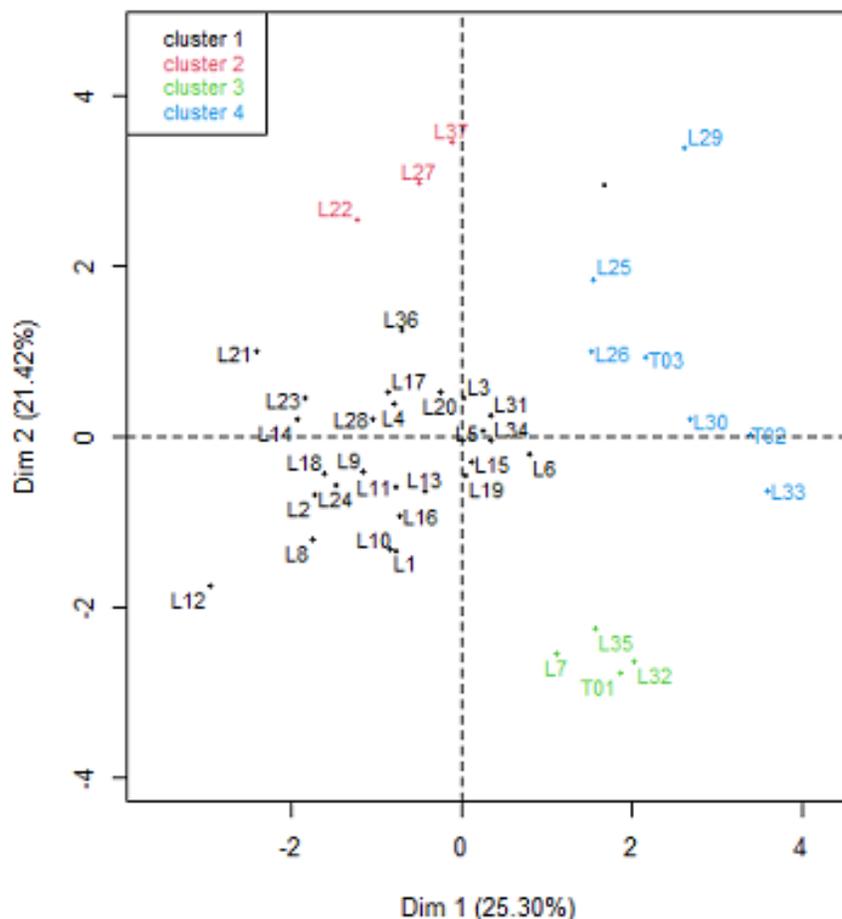


Figure 33: Distribution des lignées dans le plan factoriel

2.1.5. Effet du stress hydrique sur les paramètres agronomiques

Le tableau XVIII présente l'effet du stress hydrique sur les paramètres agronomiques des lignées de maïs. En condition de non stress, les résultats ont montré une différence hautement significative entre les lignées pour le taux de senescence des feuilles ($p < 0,001$). Hormis, les lignées L9 (66,67 %) et L21 (80 %) qui ont enregistré les forts taux de mortalité des feuilles, toutes les autres lignées ont affiché des taux statistiquement semblables entre elles et similaires à ceux des témoins. Ces taux ont été en moyenne inférieurs à 50 %. Par contre, en condition de stress, le taux de senescence des feuilles a considérablement augmenté. Les lignées L4, L17, L23 et L21 ont été les plus sévèrement touchées car ayant enregistré les plus fortes moyennes de feuilles mortes avec des taux moyens supérieurs à 93 %. Le taux le plus faible a été présenté par le témoin T03 (3,33 %).

Concernant le rendement, une différence hautement significative de ce caractère a été observée entre les lignées ($p < 0,001$) en condition de non stress. Les meilleurs rendements en grains ont été

enregistrés par les témoins T01 (3,73 t/ha), T02 (4,38 t/ha) et T03 (3,88 t/ha), suivis des lignées L5 (3,09 t/ha) et L25 (3,5 t/ha). Les lignées L18 (0,9 t/ha) et L27 (0,88 t/ha) ont été les moins productives. Sous stress hydrique, une différence hautement significative du rendement a également été observée entre les lignées ($p < 0,001$). La lignée L1, avec 1,71 t/ha, a présenté le meilleur rendement en grains de toute la population de lignée étudiée. Cette production, était supérieure à celle du témoin T01 (1,52 t/ha) et inférieure au rendements des témoins T02 (2,69 t/ha) et T03 (3,2 t/ha). La lignée L14 a présenté le plus faible rendement avec 0,36 t/ha.

Tableau XIX: Variation des paramètres agronomiques en fonction du stress appliqué

Lignées	TSF (%)		RENDEMENT(t/ha)	
	NS	S	NS	S
L1	3,33±1,7 ^a	86,67±1,5 ^{ab}	2,20±0,1 ^{cd}	1,71±0,1 ^f
L2	11,67±2,8 ^a	70±1,2 ^{ab}	2,29±0,1 ^{cd}	1,44±0,4 ^f
L3	6,67±0,7 ^a	76,67±1,2 ^{ab}	2,05±0,5 ^{cd}	1,03±0,1 ^c
L4	30±2 ^{ab}	93,33±2,7^b	1,44±0,3 ^c	0,87±0,1 ^b
L5	3,33±0,6 ^a	53,33±3,1 ^{ab}	3,09±1,1 ^d	1,08±0,0 ^f
L6	6,67±0,7 ^a	20±1 ^{ab}	1,35±0,2 ^{bc}	0,93±0,0 ^{de}
L7	16,67±1,5 ^{ab}	50±3,4 ^{ab}	1,36±0,4 ^{bc}	0,76±0,2 ^c
L8	16,67±1,5 ^{ab}	66,67±2,8 ^{ab}	1,73±0,3 ^c	1,04±0,0 ^{ef}
L9	66,67±2,8^c	80±1,3 ^{ab}	1,36±0,3 ^{bc}	0,71±0,3 ^{bc}
L10	20±0,1 ^{ab}	86,67±1,5 ^{ab}	1,77±0,4 ^c	1,13±0,6 ^f
L11	20±1,1 ^{ab}	76,67±2,1 ^{ab}	1,80±0,2 ^c	0,82±0,1 ^c
L12	6,67±2,7 ^a	40±1,3 ^{ab}	1,15±0,1 ^b	0,79±0,0 ^c
L13	53,33±1,7 ^b	73,33±0,8 ^{ab}	1,37±0,3 ^{bc}	0,43±0,0 ^{ab}
L14	6,67±2,7 ^a	40±1,2 ^{ab}	1,96±0,2 ^{cd}	0,36±0,0^a
L15	26,67±2,8 ^{ab}	43,33±3,1 ^{ab}	2,37±0,1 ^{cd}	1,64±0,2 ^f
L16	6,67±2,7 ^a	63,33±0,5 ^{ab}	2,19±0,2 ^{cd}	0,62±0,0 ^{bc}
L17	36,67±2,3 ^{ab}	93,33±1,5^b	1,32±0,1 ^{bc}	0,53±0,0 ^b
L18	6,67±0,7 ^a	20±3,5 ^{ab}	0,90±0,1^a	0,44±0,0 ^{ab}
L19	5±0,7 ^a	23,33±2,7 ^{ab}	1,13±0,1 ^b	0,46±0,0 ^{ab}
L20	23,33±1,1 ^{ab}	60±3,1 ^{ab}	1,06±0,1 ^{ab}	0,64±0,1 ^{bc}
L21	80±1^c	96,67±1,7^b	1,46±0,1 ^c	0,52±0,1 ^b
L22	21,67±2,8 ^{ab}	81,67±2,8 ^{ab}	2,65±0,7 ^{cd}	1,24±0,0 ^f
L23	33,33±2,1 ^{ab}	93,33±1,5^b	1,41±0,0 ^{bc}	0,97±0,1 ^{de}
L24	20±2,9 ^{ab}	60±2,5 ^{ab}	1,75±0,2 ^c	0,83±0,1 ^{cd}
L25	10,33±1,5 ^a	21,67±2,6 ^{ab}	3,50±0,8 ^d	0,83±0,0 ^{cd}
L26	3,33±0,2 ^a	30±1,8 ^{ab}	2,20±0,2 ^{cd}	1,70±0,2 ^f
L27	20±3,3 ^{ab}	76,67±1,2 ^{ab}	0,88±0,1^a	0,67±0,0 ^{bc}

L28	3,33±0,2 ^a	40±1 ^{ab}	1,48±0,1 ^c	0,80±0,1 ^c
L29	10±0,6 ^a	36,67±3,2 ^{ab}	1,79±0,1 ^c	1,29±0,2 ^f
L30	3,33±1,3 ^a	63,33±2,4 ^{ab}	2,16±0,3 ^{cd}	1,67±0,1 ^f
L31	3,33±0,9 ^a	36,67±1,4 ^{ab}	2,24±0,6 ^{cd}	1,08±0,0 ^f
L32	8,33±0,6 ^a	13,33±1,5 ^{ab}	2,18±0,3 ^{cd}	1,50±0,1 ^f
L33	3,33±2,3 ^a	60±0,8 ^{ab}	2,44±0,2 ^{cd}	1,55±0,2 ^f
L34	3,33±1,8 ^a	43,33±3,3 ^{ab}	1,16±0,3 ^b	0,83±0,1 ^{cd}
L35	3,33±1,5 ^a	30±1 ^{ab}	2,02±0,1 ^{cd}	1,20±0,2 ^f
L36	6,67±1,7 ^a	36,67±2,3 ^{ab}	2,35±0,7 ^{cd}	1,41±0,1 ^f
L37	16,6±2,7 ^{ab}	63,33±2,3 ^{ab}	1,12±0,01 ^b	0,52±0,0 ^b
T01	6,67±2,7 ^a	23,33±3,2 ^{ab}	3,73±0,1 ^e	1,52±0,2 ^f
T02	3,33±2,1 ^a	30±2 ^{ab}	4,38±0,1^f	2,69±0,7 ^{fg}
T03	1,67±0,6 ^a	3,33±1,3^a	3,88±0,8 ^e	3,20±0,3^g
F	2,65	4,91	12,73	19,2
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Dans une colonne, les moyennes suivies par la même lettre ne sont pas différentes significativement à 5 % de probabilité selon le test de Newman-Keuls. **P** : Probabilité approximative des tests ; **F** : constance de Fischer ; **TSF** : taux de senescence des feuilles ; **Rend** : rendement ; **NS** : non stressé ; **S** : stressé

2.1.6. Structuration des lignées étudiées à travers les paramètres biochimiques et agronomiques

2.1.6.1. Choix des axes

Les deux premiers axes de l'ACP ont exprimé une variance totale de 45,487 avec respectivement pour le premier et le second axe. Ces deux axes ont été retenus pour la réalisation de cette étude. Les valeurs propres ainsi que le pourcentage de variance de chaque axe sont consignés dans le L'Analyse en Composantes Principales (ACP) a transformé les 12 caractères étudiés en autant de facteurs ou Composantes Principales (Axes) avec des valeurs propres allant de 0,003 pour l'axe 12 à 3,302 pour l'axe 1 (tableau XX). Les 2 premiers axes de l'analyse expriment 45,5 % de l'inertie totale du jeu de données, avec des variances respectives de 27,513 et 17,984. Cela signifie que 45,5 % de la variabilité totale du nuage des individus (ou des variables) est représentée dans ce plan. Malgré que ce pourcentage soit relativement moyen, il demeure supérieur à la valeur référence de 34,07 % (cette inertie de référence est le quantile 0.95-quantile de la distribution des pourcentages d'inertie obtenue en simulant 1028 jeux de données aléatoires de dimensions comparables sur la base d'une distribution normale). En conséquence, la variabilité expliquée par ce plan (Axe 1- Axe 2) est donc significative (ces axes sont porteurs d'une véritable information). La description de l'analyse a ainsi été restreinte à ces seuls axes.

Tableau XX: Valeurs propres et pourcentage de variation exprimée par les deux premiers axes de l'analyse en composantes principales

Composante	Valeurs propres initiales		
	Total	% de la variance	% cumulé
1	3,302	27,513	27,513
2	2,158	17,984	45,497
3	1,462	12,185	57,683
4	1,423	11,856	69,538
5	0,878	7,320	76,858
6	0,786	6,546	83,404
7	0,622	5,183	88,587
8	0,537	4,476	93,063
9	0,442	3,685	96,749
10	0,248	2,067	98,816
11	0,139	1,160	99,976
12	0,003	0,024	100,000

2.1.6.2. Contribution des caractères à la réalisation des axes

L'examen des coordonnées des variables (Tableau XXI) a montré que les paramètres chlorophylliens (Chlorophylle a et Chlorophylle t) ainsi que le rendement) ont activement contribué à la construction du premier axe. Le second axe a quant à lui été élaboré par les paramètres tels que le rapport Chlorophylle a/Chlorophylle b ainsi que des paramètres biochimiques tels que les sucres totaux et la proline.

Tableau XXI: Contribution des paramètres à la réalisation des axes

Paramètres	Axe 1	Axe 2
CHLa	0,865	0,127
CHLb	0,539	-0,513
CHLa/CHLb	-0,2	0,706
CHLt	0,865	0,066
PROT	0,448	0,489
CPh	0,218	0,543
ST	-0,125	0,797
AsP	-0,414	-0,058
CAT	-0,273	-0,294
PROL	-0,05	0,706
Rend	0,729	-0,021
TSF	-0,656	0,097

CHLa : Chlorophylle a ; CHLb : Chlorophylle b ; CHLa/CHLb : Chlorophylle a / Chlorophylle b ; CHLt : Chlorophylle totales ; PROT : Protéines ; CPh : Composés phénoliques ; ST : Sucres totaux ; AsP : Ascorbate peroxydase ; CAT : Catalase ; Rend : Rendement ; TSF : Taux de senescence des feuilles

2.1.6.3. Projection des lignées sur le cercle de corrélation

La projection de l'ensemble des variables dans le plan factoriel (Figure 34) a montré qu'à l'exception des composés enzymatiques (catalase et ascorbate peroxydase), dans l'ensemble, toutes les variables ont activement contribué à la discrimination des lignées étudiées. Les pigments photosynthétiques ainsi que le rendement sont fortement et positivement corrélés avec la première composante (axe 1). Le taux de senescence des feuilles a négativement été à cet axe. Le rapport chla/chlb, les sucres totaux, la proline ainsi que les composés phénoliques ont positivement été corrélés à la seconde composante (axe 2).

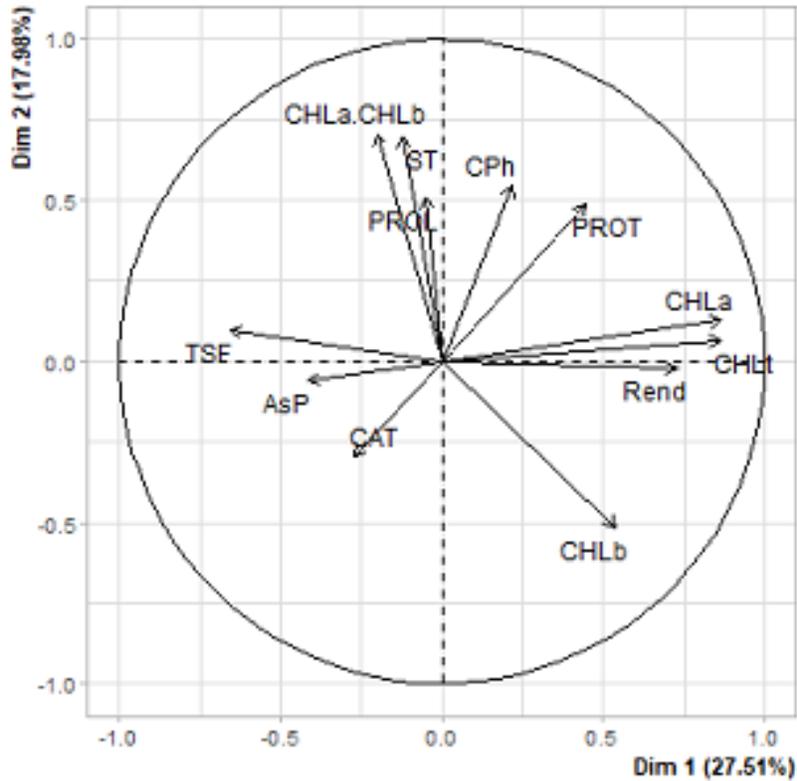


Figure 34: Cercle de corrélation des variables

2.1.6.4. Projection des lignées dans le plan factoriel

La figure 35 présente la projection des lignées sur le plan factoriel. L'examen de cette figure montre 5 groupes de lignées statistiquement distincts. Le groupe 1 (G1) est composé de 16 lignées (L1, L2, L4, L8, L9, L10, L11, L12, L13, L14, L16, L17, L18, L21, L23 et L24) caractérisées par de fortes teneurs en composés enzymatiques et un nombre élevé de feuilles mortes. Elles sont également caractérisées par de faibles concentrations en pigments photosynthétiques et en composés phénoliques. Le groupe 2 (G2) est constitué des lignées L22, L27 et L37 se distinguant par de fortes concentrations en sucres totaux, en composés phénoliques, en proline et en rapport élevé de chl a/chl b. Le groupe 3 (G3) a regroupé les lignées L3, L5, L6, L15, L19, L20, L26, L28, L34 et L36 qui ont présenté des valeurs moyennes pour l'ensemble des variables évaluées. Les lignées L7, L32 et L35 ainsi que le témoin T01 ont formé le groupe 4 (G4). Ce groupe s'est caractérisé par de faibles valeurs en chlorophylle b, en chl a/chl b et en taux sénescence des feuilles. Le groupe 5 (G5) a englobé les lignées L25, L26, L29, L30, L33 et les témoins T02 et T03. Ce

groupe est caractérisé par de fortes concentrations en pigments chlorophylliens et de faibles teneurs en protéines enzymatiques avec des rendements élevés.

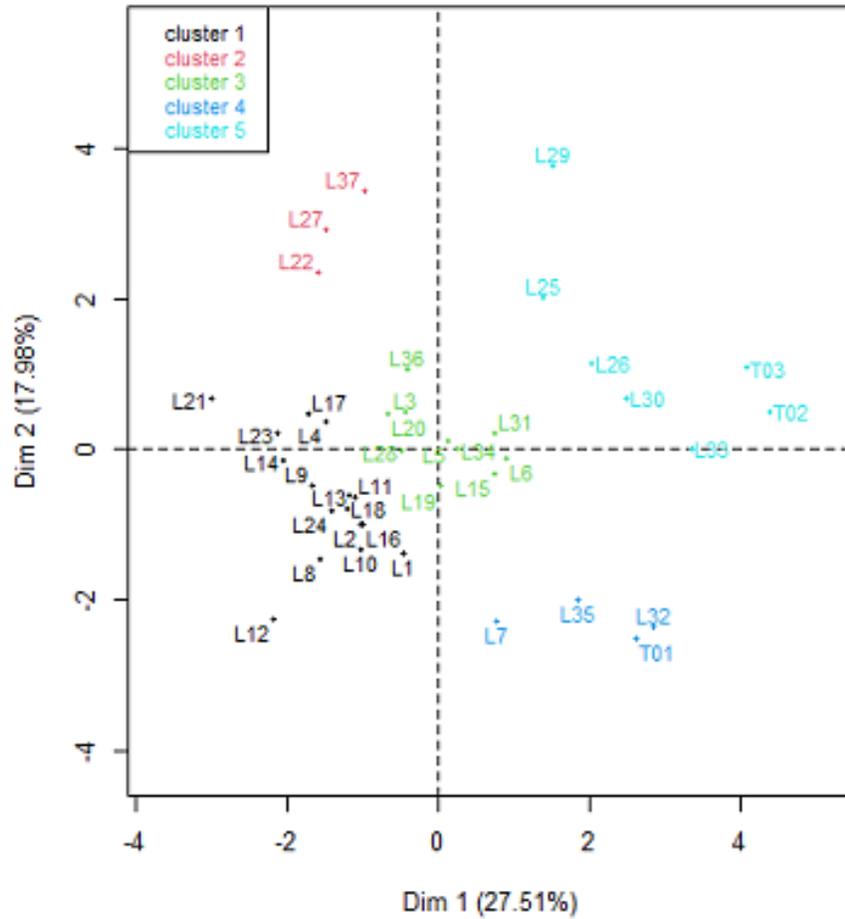


Figure 35: Distribution des lignées dans le plan factoriel en fonction des paramètres physiologiques, biochimiques et agronomiques

2.2. Discussion

L'étude anatomique des stomates, éléments essentiels dans le maintien de l'équilibre d'eau dans la plante a été réalisée. Les résultats ont révélé une importante variation de la densité stomatique aussi bien en condition de stress qu'en condition normale. Ce résultat s'explique par la grande diversité génétique observée au sein des lignées étudiées. Des résultats similaires ont été obtenus par Djinet *et al.* (2016) au cours de leurs travaux de caractérisation stomatique chez le palmier à huile. Ces auteurs ont montré que la densité des stomates variait en fonction non seulement de l'âge des plants, des faces des feuilles mais aussi et surtout de la variété. En somme, la densité stomatique est un caractère génétique. Dans le même ordre d'idée, Borthakur *et al.* (2017) ont montré que, bien que la densité stomatique soit affectée par des facteurs environnementaux, son contrôle génétique demeure indéniable. De même les résultats ont montré que le stress appliqué a induit une réduction du nombre de stomates par unité de surface de feuille. Cette réduction de la densité est probablement due aux dommages causés par le manque d'eau dans le métabolisme de la plante. Ces résultats sont en accord avec ceux de Hou *et al.* (2023) qui ont montré que les déficits plus sévères appliqués aux plantes de cotonnier ont entraîné une réduction de la densité des stomates. Les résultats ont aussi montré une réduction du degré d'ouverture des stomates en condition de stress. Selon Westgeest *et al.* (2023), en réponse à un déficit hydrique, la plante réduit intentionnellement l'ouverture de ses pores (ostioles) afin d'éviter la perte excessive d'eau. Des résultats similaires ont été obtenus par Hasanuzzaman *et al.* (2023) sur différentes espèces de plantes soumises à divers stress abiotiques. Lei *et al.* (2018) ont également montré l'effet dépressif du stress hydrique sur l'ouverture des stomates des plantes de cotonnier.

Au niveau des pigments photosynthétiques, les résultats ont montré un effet très significatif du stress hydrique sur les teneurs en chlorophylles. Le manque d'eau a provoqué une chute des teneurs en pigments photosynthétiques des feuilles. En effet, ces pigments sont utilisés par la plante pour réaliser sa photosynthèse. Ce processus permet à la plante d'utiliser l'énergie du soleil pour convertir le dioxyde de carbone (CO_2) et l'eau en oxygène en matière organique (Machín *et al.*, 2023). La diminution de la teneur en chlorophylle en conditions de stress hydrique est selon Luo *et al.* (2023) due en grande partie aux dommages causés aux chloroplastes par les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) tels que l'O_2^- et $\text{l'H}_2\text{O}_2$, ce qui peut provoquer une peroxydation des lipides, entraînant ainsi la dégradation de la chlorophylle. Dans leur étude, Bouchemal *et al.* (2018) ont montré que la diminution des pigments chlorophylliens est liée à la fermeture des stomates et à un

manque de CO₂. Ces deux phénomènes sont associés à une production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Pour Intani & Laurentius (2022), la chlorophylle est un indicateur de la santé des plantes. Des résultats similaires ont été obtenus avec d'Adjeneg & Belouadeh (2022) et Boucenna (2017) qui ont montré que les plantes de blé sous stress hydrique réagissent par une baisse de leur teneur en chlorophylle. Par ailleurs, Bousba *et al.* (2009) ont indiqué que cette chute de la teneur en chlorophylle est la conséquence de la réduction de l'ouverture des stomates. Selon eux, cette réduction vise à limiter les pertes en eau par évapotranspiration et à augmenter la résistance à l'entrée du CO₂ atmosphérique nécessaire à la photosynthèse. Des résultats similaires ont été obtenus sur de nombreuses espèces en condition de stress hydrique : le riz (Cha-Um *et al.*, 2010), le blé (Hammad & Ali, 2014 ; Chahbar & Belkhodja, 2016 ; Khalilzadeh *et al.*, 2016 ; Trukhachev *et al.*, 2022), le gombo (Nana *et al.*, 2009).

Contrairement à tous ces résultats, certains travaux ont montré une augmentation du taux de chlorophylles dans les plantes stressées. Ainsi, Nguinambaye *et al.* (2020) ont montré que la teneur en chlorophylle des feuilles des plantes de lentilles de terre en conditions de stress sévère était plus élevée par rapport aux plantes témoins. De même, González-Espíndola *et al.* (2024) ont rapporté une augmentation de la teneur en chlorophylles de certains écotypes de *Lotier cornicule* L. en condition de stress hydrique. Cependant, Toudou *et al.* (2017) n'ont observé aucune différence significative entre les teneurs en chlorophylles chez certaines plantes sous stress et les plantes témoins au cours de leur étude sur le niébé.

L'analyse du taux de composés phénoliques a révélé, chez les lignées, des teneurs plus élevées en conditions de déficit hydrique qu'en conditions normales d'apport d'eau. En condition de stress hydrique, les feuilles des lignées L22, L27 et L37 ont enregistré les plus fortes teneurs en composés phénoliques. En effet, les composés phénoliques exercent des actions spécifiques sur la croissance cellulaire pour lutter contre le stress (Zagoskina *et al.*, 2023). Selon Bidel *et al.* (2010) et Cheynier *et al.* (2013), les polyphénols ont un rôle dans le maintien de la structure cellulaire et sa protection, en particulier comme capteurs de radicaux libres. Ce sont de puissants antioxydants qui participent aux réactions de défense de la plante face à différents stress, notamment le stress hydrique (Tsao, 2010). De ce fait, les lignées ayant enregistré les plus fortes teneurs en polyphénols auraient une meilleure capacité de lutte contre les radicaux libres. Ces résultats suggèrent que ces lignées ont une bonne capacité adaptative vis-à-vis du stress hydrique. De nombreux auteurs ont aussi observé

l'augmentation de polyphénols chez les plantes confrontées au stress hydrique. Ainsi Usha & Jyothsna (2010), Pratyusha & Usha (2016) et Albergaria *et al.* (2020) ont enregistré, en condition de stress hydrique, une augmentation de la teneur en composés phénoliques, respectivement chez le riz, l'arachide et plusieurs plantes médicinales. Selon eux, cette augmentation est cruciale pour la régulation de la croissance et le développement de ces plantes.

Une augmentation de la teneur en protéines a été observée dans les feuilles des lignées étudiées en condition de stress hydrique. Cette augmentation s'explique par le fait que ces protéines interviennent dans la régulation du métabolisme des plantes. En effet, elles jouent un rôle vital de protecteur et sont impliqués dans la régulation de transduction (régulation du flux de kinases) des signaux pendant la sécheresse (Singh *et al.*, 2022). De plus, l'induction de plusieurs facteurs de transcription de gènes de résistance à la sécheresse conduit à la synthèse accrue de protéines (Wu *et al.*, 2022). Les résultats sont en accord avec ceux de Flagella *et al.* (2010) ainsi que ceux de Atoui & Fergati (2019) sur le blé. Selon ces derniers, en condition de déficit hydrique on assiste à une forte augmentation de la teneur en protéines qui est étroitement associée à une diminution du rendement. Wang *et al.* (2021) ont également montré chez le maïs (*Zea mays* L.) qu'en condition de déficit hydrique, on assiste à une forte augmentation de la teneur en protéines dans les feuilles des plantes. Cette forte teneur en protéines dans les feuilles est indispensable au fonctionnement et au développement des plantes (Wang *et al.*, 2021).

Concernant les sucres totaux, les résultats ont montré leur synthèse accrue en condition de manque d'eau. Selon Ouazzani & Moustaghfir (2020), Pfister (2018) et Korgaonkar & Bhandari (2023), dans des conditions de sécheresse, l'accumulation de sucre aide à maintenir la stabilité de la membrane cellulaire. Cela contribue également à protéger l'intégrité de la membrane, en empêchant sa fusion. Enfin, cette accumulation de sucre permet aussi de préserver les protéines, les maintenant ainsi fonctionnelles. De nombreuses espèces végétales accumulent des sucres en réponse à la déshydratation. Ces sucres jouent un rôle essentiel dans l'ajustement osmotique de la cellule. En outre, ces accumulations de sucres participent également à la protection de la membrane des cellules (Sahar, 2020). Ainsi, le fort taux de sucre observé dans les feuilles des lignées L22, L27 et L37 présage d'une bonne aptitude d'adaptation de ces lignées au déficit hydrique.

Les teneurs en proline ont été plus élevées chez les lignées sous stress comparées aux lignées en condition normale. La proline constitue un bon marqueur de stress abiotique (Raza *et al.*, 2023). Plusieurs auteurs ont montré que l'augmentation de la teneur en proline est liée directement à l'application du stress hydrique (Azzi & Khouai, 2020). L'accumulation de la proline a été démontrée chez de nombreuses espèces et dans différentes situations de stress (osmotique, hydrique et thermique) (Maazouz & Abbas, 2021). Elle agit dans l'ajustement osmotique, comme osmorégulateur et osmoprotecteur des systèmes enzymatiques et des membranes et comme des réserves permettent à la plante de disposer des ressources énergétiques, carbonées et azotées nécessaires à son rétablissement une fois le stress hydrique terminé (Triboulot, 2018). Diverses études ont révélé que la proline joue un rôle clé dans la tolérance cytoplasmique chez beaucoup d'espèces ainsi que dans la résistance de la plante aux contraintes hydriques (Bachiri, 2020). De plus, Azzi & Khouai (2020) ont également montré que la proline agit comme un osmolyte et sa production accrue confirme la tolérance osmotique chez les plantes en condition de stress. En plus de son rôle d'osmoprotecteur, la proline a un rôle dans le renforcement du système antioxydant et de lutte contre les dommages du stress (Tchaker, 2018). Aussi, les lignées qui ont présenté de forts taux de proline ont un bon potentiel de résistance au stress hydrique.

Le dosage des enzymes anti-oxydantes a montré que les activités de la catalase (CAT) et de l'ascorbate peroxydase (APx) ont été plus importantes au niveau de certaines lignées stressées. D'après Amina (2021) l'activité de la catalase augmente dans les feuilles des céréales pendant un stress. Ce qui implique que la catalase est considérée comme un marqueur central dans la protection contre le stress. La forte activité de la catalase et de l'APx dans les feuilles de ces différentes lignées sous stress hydrique, démontre que ces plantes mettent en place un système pour résister au déficit hydrique (Akyüz *et al.*, 2020 ; Mishra *et al.*, 2023). Selon Benmakhlouf & Moulkaf (2021), pour contrer les effets néfastes du stress hydrique, la plante active son système anti-oxydant à travers l'augmentation de l'activité de la catalase et de l'ascorbate peroxydase. Ainsi, les résultats obtenus mettent en évidence le fait que chez les plantes stressées il y a de fortes activités antioxydantes enzymatiques. En effet, la capacité du système antioxydant de la plante est un élément crucial pour préserver l'intégrité du système photosynthétique lorsque la plante est soumise à un stress hydrique (González-Villagra *et al.*, 2022). Pan *et al.* (2020) ainsi que Kim *et al.* (2020) affirment que les concentrations des enzymes catalase et ascorbate peroxydase donnent assez de capacités aux plantes pour tolérer la sécheresse. Par ailleurs, selon Boulahia *et al.* (2020), l'augmentation de

l'activité enzymatique constitue une forme d'adaptation au déficit hydrique des plantes contre les ROS et les radicaux d'hydroxyle (OH⁻).

Les résultats relatifs à l'effet du stress hydrique sur le taux de senescence des feuilles de maïs ont montré une nette augmentation du taux de mortalité des feuilles au niveau des lignées stressées. Ce résultat s'explique par le choix de la plante de perdre intentionnellement des feuilles afin de limiter la transpiration excessive et d'économiser l'eau (Nadal-Sala *et al.*, 2021). C'est une des stratégies de réponse au déficit hydrique prononcé (Desclos, 2020). En réponse à la sécheresse, la sénescence foliaire limite considérablement la production primaire et conduit également à une allocation préférentielle des ressources aux organes reproducteurs. Des résultats similaires aux nôtres, ont été rapportés par Dechaumet (2018) sur du colza soumis à un déficit hydrique.

Enfin, au niveau du rendement, le déficit hydrique a eu un effet dépressif hautement significatif sur les lignées stressées. En effet, sous stress hydrique, les lignées étudiées ont présenté des rendements largement inférieurs à ceux des lignées de la parcelle normalement irriguée. Ce résultat s'explique par le fait que le maïs est connu comme une plante exigeante en eau (Barrière, 2020). Du fait de son comportement isohydrique, cette plante ferme ses stomates en cas de déficit hydrique (Sandy, 2023) ; ce qui entraîne un ralentissement de la photosynthèse et une baisse sensible de la croissance et de la production (Thierry, 2020). Amigues *et al.* (2021) ont montré qu'un déficit hydrique après la fécondation réduit la taille des organes et il en résulte une réduction du nombre de grains, qui aura un effet sur le rendement, même si les conditions hydriques redeviennent favorables. Des résultats similaires de réduction de rendement ont été obtenus par Medjahed & Rouane (2023), Kadri (2018) et Soewarto (2018) sur respectivement le blé tendre, des populations de *Medicago* et des cultivars de maïs soumis à un déficit hydrique durant les phases végétatives et de floraison.

L'Analyse en Composante Principale (ACP) a permis de classier l'ensemble des lignées étudiées en cinq groupes statistiquement distincts selon leurs caractéristiques respectives. Les groupes 2 et 5, avec respectivement des potentialités supérieures et identiques aux témoins résistants (T02 et T03) peuvent être considérées comme des lignées possédant de bonnes aptitudes de résistances à la sécheresse.

Conclusion partielle

Cet axe de notre étude avait pour objectif d'évaluer le potentiel de résistance au déficit hydrique de chaque lignée développée. Il ressort de cette étude que le déficit hydrique a un effet significatif sur l'ensemble des paramètres considérées. L'analyse multivariée réalisée a permis de dégager deux groupes de lignées intéressantes. Le premier groupe est constitué de lignées L22, L27 et L37 qui présentent des potentialités de résistance à la sécheresse largement supérieures aux témoins résistants T02 et T03. Le second groupe comprend les lignées L25, L26, L29, L30 et L33 identifiées comme possédant des caractères de résistance à la sécheresse similaires aux témoins résistants. Ces deux groupes de lignées développés à Daloa constituent du matériel végétal intéressant pour les programmes d'amélioration du maïs.

3. VARIABILITE GENETIQUE DES LIGNEES POTENTIELLEMENT RESISTANTES A L'AIDE DE MARQUEURS ISSR

3.1. Résultats

3.1.1. Quantité et qualité des extraits d'ADN obtenus

Le tableau XXII présente les différentes concentrations ainsi que les puretés des extraits d'ADN obtenus. Les concentrations ont varié de 1446,5 à 2605,4 ng/ μ L tandis que la pureté s'est rangée entre 0,64 et 1,84.

Tableau XXII : Concentrations et pureté des extraits d'ADN des lignées de maïs étudiées

Lignées	Concentration (ng/ μ L)	Pureté (DO 260/280)	Lignées	Concentration (ng/ μ L)	Pureté (DO 260/280)
L22	2489,4	1,49	L29	2023,9	0,93
L22	2352,8	1,31	L29	2577,6	1,45
L22	2337,2	1,22	L30	2272,7	1,57
L22	2268,1	1,14	L30	2212,5	1,02
L22	2605,4	1,38	L30	2161,6	1,45
L25	2275	1,47	L30	2350,1	1,46
L25	1936,4	0,92	L30	2015,6	0,92
L25	1647	0,74	L33	2063,6	1,12
L25	2455,2	1,73	L33	1973,2	0,97
L25	1996	1,48	L33	2367,2	1,76
L26	2190,5	1,64	L33	2421,8	1,35
L26	2174,1	1,14	L33	2119,2	1,09
L26	1888,8	1,59	L37	2163,5	1,01
L26	2438,3	1,43	L37	2222,9	1,06
L26	2281,2	1,51	L37	2288,6	1,15
L27	2211,9	1,54	L37	2095,3	0,94
L27	1446,5	1,72	L37	2376,4	1,14
L27	2192,2	1,38	T01	1587,4	0,64
L27	2026,8	1,13	T01	1783,4	0,73
L27	1794,6	0,82	T01	2271,2	1,62
L29	2539,1	1,68	T01	2099,5	0,97
L29	2296,7	1,84	T01	2430,2	1,12
L29	2420,1	1,36			

3.1.2. Analyse des profils par amorce ISSR

Les observations faites sur les profils électrophorétiques des différentes amorces ISSR utilisées ont révélé de bonnes amplifications PCR chez toutes les lignées étudiées (Figure 36). L'examen de ces profils a permis de mettre en évidence au total 221 locus (Tableau XXII) dont 187 polymorphes, soit un taux de polymorphisme de 84,42 %.

Par amorce, le nombre de loci révélés a varié de 17 (ISSR 844A) à 26 (ISSR 17899B). Par ailleurs, le nombre de loci polymorphes se rangeait entre 13 et 24 respectivement pour les ISSR 844A et ISSR N5. Le taux de polymorphisme par amorce quant à lui a varié entre 60,87 % (ISSR 857) et 96 % (ISSR N5).

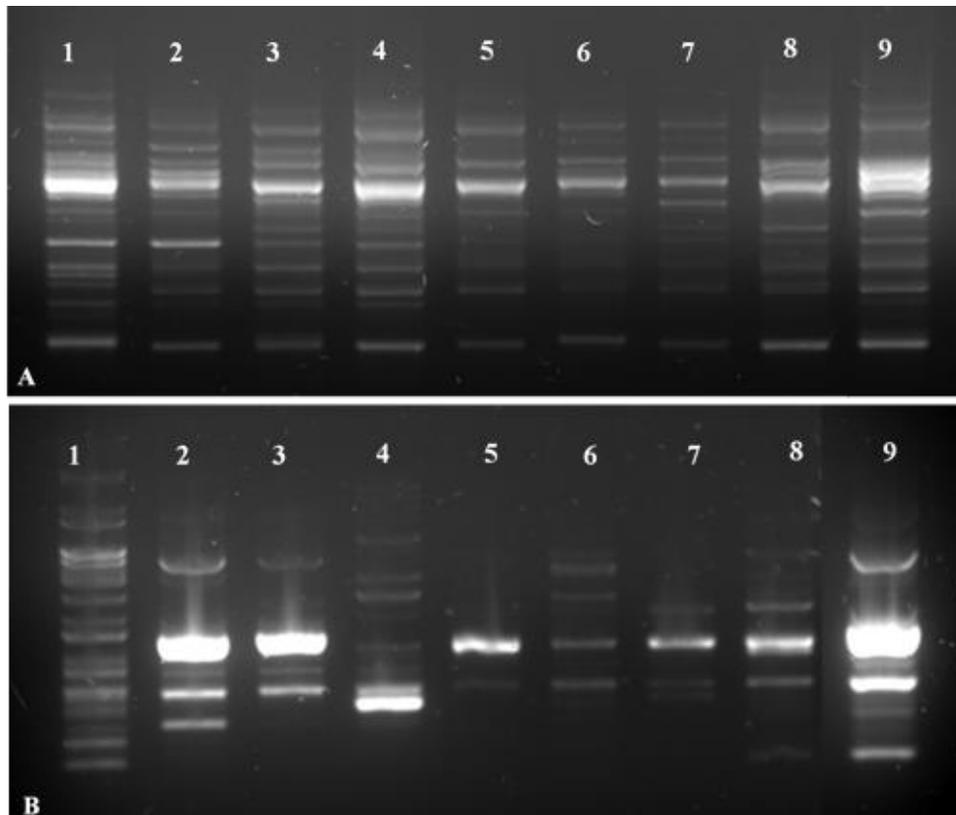


Figure 36: Quelques profils électrophorétiques obtenus chez les lignées étudiées

A) ISSR 844A; B) ISSR DAT; 1) L37; 2) L33; 3) L30; 4) L29; 5) L27; 6) L26; 7) L25; 8) L22; 9) Témoin EV8728.

Tableau XXIII: Nombre de loci et taux de polymorphisme mis en évidence par les amorces ISSR

Amorces	NTLR	NTLM	NTLP	TP (%)
ISSR 1	23	2	21	91,30
ISSR 7	19	1	18	94,74
ISSR 807	22	5	17	77,27
ISSR 844A	17	4	13	76,47
ISSR 857	23	9	14	60,87
ISSR 887	21	2	19	90,48
ISSR 17899A	22	5	17	77,27
ISSR 17899B	26	3	23	88,46
ISSR DAT	23	2	21	91,30
ISSR N5	25	1	24	96,00
Total	221	34	187	84,42

NTLR : nombre total de loci révélés, NTLM : nombre total de loci monomorphes, NTLP : nombre total de loci polymorphes, TLP : taux de polymorphisme.

3.1.3. Analyse des profils des lignées étudiées

Les relations génétiques entre les lignées sont présentées par le tableau XXIII. Toutes les lignées étudiées ont révélé des bandes uniques par rapport au témoin, avec une moyenne de 40,125 bandes uniques par lignée. La lignée L37 a présenté le plus grand nombre de bandes uniques (67 bandes) par rapport au témoin, tandis, que la lignée L26 a enregistré la plus faible valeur (20 bandes).

Le témoin a également généré des bandes uniques par rapport aux lignées, avec une moyenne de 58,25 bandes uniques par rapport à chaque lignée. Le nombre de ces bandes a varié de 41 (par rapport à la lignée L37) à 71 (par rapport à la lignée L25).

En outre, excepté les deux lignées L25 et L26, les autres lignées ont présenté chacune des bandes spécifiques (bandes présentes chez la lignée considérée et absentes chez le témoin et les autres lignées). Le nombre de bandes spécifiques a varié de 2 (L22, L27 et L30) à 22 (L37).

Tableau XXIV: Différents types de bandes générées par les lignées

Lignées	NBUL/T01	NBUT01/L	NBUL/LT01
L37	65	41	22
L33	29	68	3
L30	33	65	2
L29	50	44	5
L22	52	43	2
L27	41	66	2
L26	20	68	0
L25	31	71	0
Moyenne	40,125	58,25	4,5

NBUL/T01 : nombre de bandes uniques de la lignée par rapport au témoin, NBUT01/L : nombre de bandes uniques du témoin par rapport à la lignée. NBUL/LT01 : nombre de bandes uniques de la lignée par rapport aux autres lignées et au témoin.

3.1.4. Relations génétiques entre les lignées étudiées

Afin de visualiser les relations génétiques entre les différentes lignées de maïs étudiées, une matrice de dissemblance a été élaborée (Tableau XXIV). Cette matrice a été élaborée en considérant les coefficients de dissimilarité de Jaccard pour l'ensemble des paires de lignées résistantes étudiées. La valeur des coefficients de Jaccard entre deux lignées permet d'apprécier le degré de leur similitude (ou dissemblance) génétique. Les valeurs obtenues pour ce coefficient ont varié de 0,54 à 0,81 avec une moyenne de 0,6. La plus faible dissemblance génétique (0,54) a été enregistrée entre les lignées L22 et L29 tandis que la plus grande (0,81) a été observée entre les lignées L26 et L33. Par ailleurs, le coefficient de dissemblance entre les lignées et le témoin a varié de 0,58 (L22 et L29) à 0,72 (L27).

Tableau XXV: Matrice des distances génétiques entre les lignées de maïs étudiées

Lignées	L37	L33	L30	L29	L27	L26	L25	L22	TO1
L37	-								
L33	0,74	-							
L30	0,73	0,61	-						
L29	0,56	0,68	0,62	-					
L27	0,71	0,71	0,68	0,63	-				
L26	0,75	0,81	0,73	0,75	0,66	-			
L25	0,71	0,77	0,72	0,71	0,60	0,66	-		
L22	0,58	0,72	0,65	0,54	0,61	0,76	0,62	-	
TO1	0,61	0,68	0,69	0,58	0,71	0,68	0,72	0,58	-

De plus, les relations génétiques entre ces lignées résistantes de maïs étudiées ont été mises en relief par une analyse en coordonnées principales (PCoA). Cette analyse a été réalisée à partir des 221 loci révélés. Les pourcentages de variation expliqués par les deux premiers axes étaient respectivement de 17,6 et 14,23 %. Il en ressort que ces deux premiers axes absorbaient 31,38 %. Le résultat de l'analyse PCoA est présenté par la Figure 37. Cette figure révèle une large dispersion des lignées sur le plan de la PCoA. Cependant, une agglomération claire des lignées en quatre groupes distincts apparaît. Le groupe 1 comprend les lignées L37 et L22 ; le groupe 2, les lignées L25, L26 et L27 ; le groupe 3, les lignées L30 et L33 et enfin le groupe 4 a rassemblé la lignée L29 et le témoin.

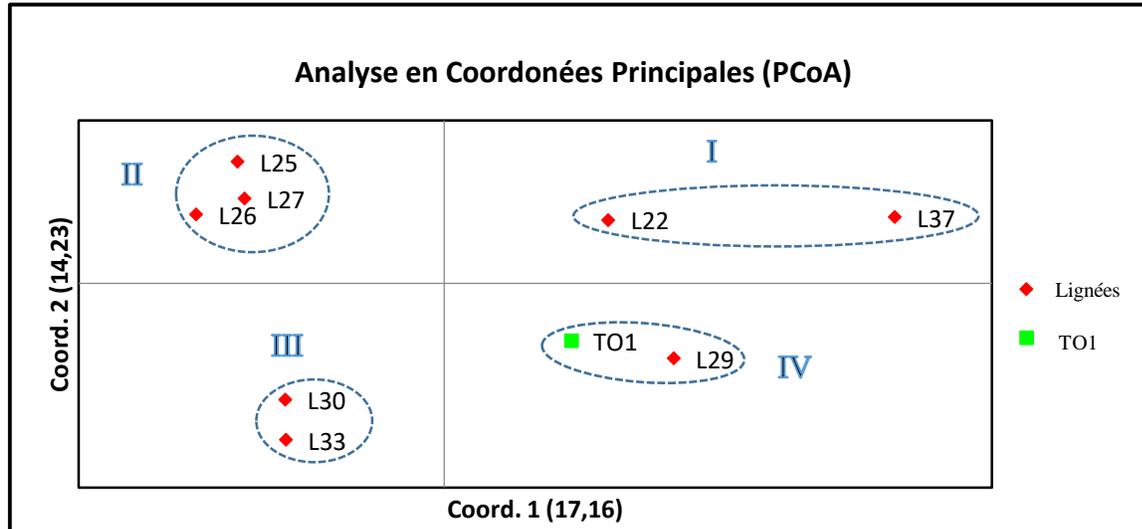


Figure 37: Distribution des lignées de maïs dans le plan 1-2 de la PCoA

Un arbre non enraciné a été élaboré par l'analyse des données ISSR en considérant les coefficients de dissimilarité de Jaccard et la méthode du neighbor-joining (Figure 38). Cet arbre a montré une représentation de l'ensemble des lignées étudiées en quatre groupes distincts. Le témoin a été isolé et a représenté le groupe 1. Le groupe 2 a regroupé les lignées L22, L29 et L37. Les lignées L30 et L33 ont composé le groupe 3, tandis que le groupe 4 a renfermé les lignées L25, L26 et L27.

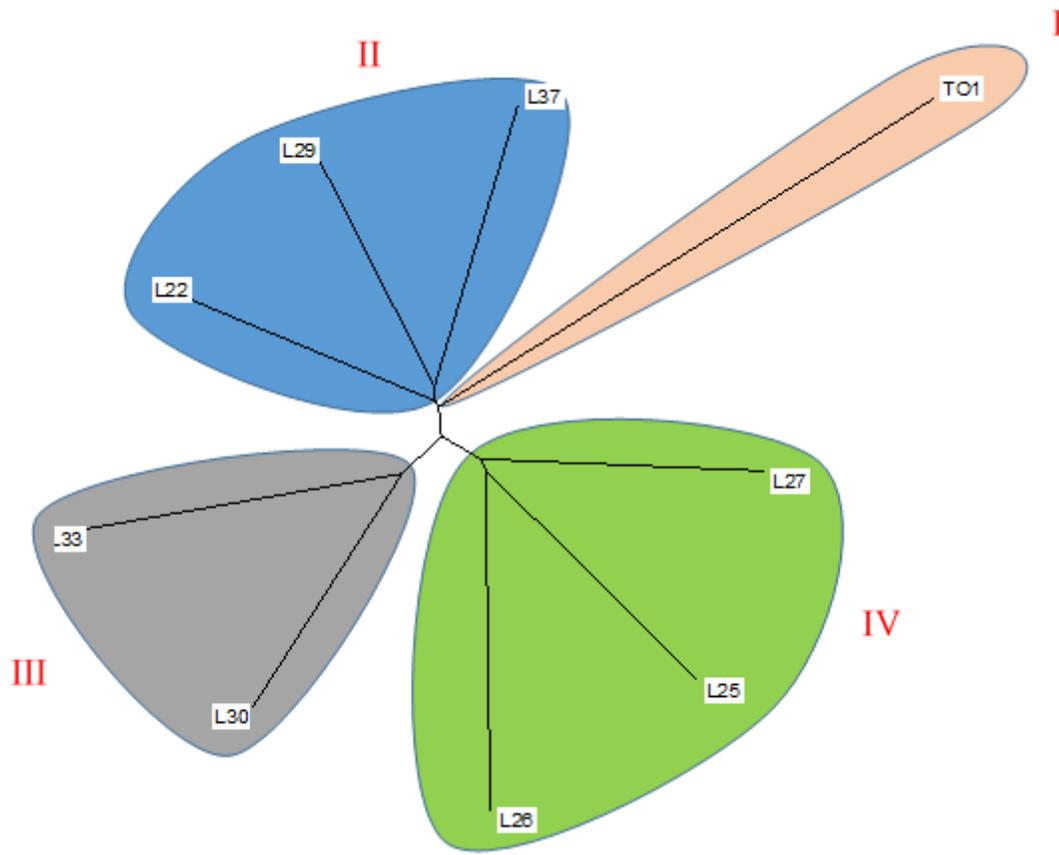


Figure 38: Arbre non enraciné des lignées résistantes étudiées

3.2. Discussion

Les marqueurs moléculaires sont insensibles à l'environnement, d'où leur usage pour la mise en évidence de la diversité génétique des individus (Amraul *et al.*, 2023). Les profils électrophorétiques obtenus à partir des marqueurs ISSR ont montré une bonne amplification des ADN des lignées étudiées. Ce succès traduit la réussite des extractions d'ADN et montre que la quantité et la qualité des extraits obtenus étaient suffisantes pour permettre des amplifications. Ce résultat traduit également l'efficacité du protocole utilisé pour la PCR et la révélation des amplicons.

Les 10 amorces ISSR utilisées ont révélé au total 221 loci. Ce nombre élevé de loci révélés par seulement 10 amorces, confirme l'efficacité des marqueurs ISSR à amplifier un nombre important de fragments d'ADN par individu (Hamza & Ferchichi, 2020). Ce résultat confirme les travaux de certains auteurs ayant révélé un nombre élevé de loci à partir d'un nombre limité de marqueurs ISSR. Ainsi, Konan *et al.* (2020), avec 5 amorces ISSR, ont révélé 60 loci chez des cultivars d'aubergine étudiés. Arisah *et al.* (2022), travaillant sur des plantes de fraise, ont obtenu 192 bandes pour 15 amorces ISSR utilisés.

Parmi les 221 loci obtenus dans la présente étude, 187 se sont montrés polymorphes, soit un taux de polymorphisme de 84,42 %. Ce haut niveau de polymorphisme traduit le caractère informatif des amorces utilisées, surtout en termes de mise en évidence du polymorphisme chez le maïs. Ces marqueurs démontrent ainsi leur efficacité pour la caractérisation de différents génotypes de maïs. Le haut niveau de polymorphisme obtenu est comparable à celui (89,59 %) observé par Soliman E *et al.* (2021) qui analysaient la diversité génétique d'une collection mondiale de ressources génétiques de maïs en Egypte avec les marqueurs ISSR. De même, Arisah *et al.* (2022) ont obtenu un niveau élevé de polymorphisme (93,3 %) avec les amorces ISSR utilisés sur des plants de fraises issus d'irradiation aux rayonnements gamma. La performance des marqueurs ISSR est imputée à sa capacité à mettre en évidence les variations de plusieurs régions inter-microsatellites réparties le long des génomes (Duan *et al.*, 2023 ; Darkwa *et al.*, 2020).

L'analyse moléculaire a révélé chez les lignées, un nombre non négligeable de bandes uniques par rapport au témoin (en moyenne 40,125 bandes uniques par lignée). Ces loci uniques qui ne se retrouvent pas chez le témoin pourraient provenir des modifications provoquées (mutations) par l'irradiation dans le génome de la variété EV8728. En effet, Wang *et al.* (2017) ont affirmé que

l'analyse par marqueurs ISSR est un moyen très efficace pour la détection des mutations induites par rayonnement gamma. Selon Schibler *et al.* (2020) de nombreuses modifications structurales survenant dans l'ADN après irradiation au rayonnement gamma, sont à l'origine des bandes spécifiques observées au cours des analyses moléculaires. Ainsi, le potentiel de résistance à la sécheresse des lignées analysées serait donc lié aux loci uniques observés. Selon El-Khateeb *et al.*, (2017) et Eun *et al.* (2024), après irradiation gamma, l'apparition de nouveaux traits génétiques chez les mutants serait lié aux différences révélées par les marqueurs par rapport aux individus témoins. Ainsi Li *et al.* (2019) en caractérisant des mutants induits de riz (*Oryza sativa* L.) de la génération M5 par séquençage du génome entier, ont détecté de nombreuses différences par rapport au témoin. Ces différences se déclinaient en 57 substitutions de bases uniques, 18 délétions et 6 insertions dans chaque mutant irradié.

Il a été révélé chez le témoin, la présence d'un nombre assez important de bandes uniques qui ne se retrouvaient pas chez les lignées. Il s'agissait en moyenne de 58,25 bandes par rapport à chaque lignée. Ce nombre important de bandes uniques du témoin traduit des délétions générées par son irradiation. En effet, selon les travaux réalisés par Ahmed *et al.*, (2020) et Du *et al.* (2020), les délétions de fragments constituent les principaux dommages de l'irradiation de la molécule d'ADN.

Cette analyse comparée des bandes a aussi révélé 22 bandes uniques chez la lignée L37. Le nombre de bandes uniques élevé chez cette lignée serait à l'origine de divers autres caractères intéressants non encore élucidés, en plus de la résistance à la sécheresse ayant fait l'objet de la présente étude.

La matrice de distances génétiques basée sur les coefficients de dissimilarité de Jaccard a révélé une forte dissemblance (une faible ressemblance) entre les lignées de maïs étudiées (coefficient de dissemblance supérieur à 0,5). Cette forte dissemblance a été confirmée par l'Analyse en Coordonnées Principales (PCoA). En effet, la PCoA a montré une large dispersion des lignées sur le plan factoriel, démontrant la variabilité génétique existant entre les lignées. Un résultat quasi-similaire a été observé avec l'arbre non enraciné construit. Ces résultats témoignent de l'importance des modifications provoquées par l'irradiation gamma dans le matériel génétique des plantes étudiées. Ces modifications sont ainsi à l'origine de la variabilité observée et matérialisée par la faible ressemblance génétique entre les lignées. Cela montre que les travaux de sélection entrepris depuis l'irradiation des semences jusqu'à la génération M5 ont effectivement permis d'isoler des

lignées génétiquement différentes. Néanmoins, ces analyses multivariées réalisées ont classifié les lignées en 4 groupes majeurs. Ces groupes, sans occulter les différences génétiques avérées entre les lignées ont montré que certaines lignées sont génétiquement plus proches.

Conclusion partielle

L'évaluation de la variabilité génétique des lignées potentiellement résistantes à la sécheresse a été réalisée au moyen des marqueurs moléculaires ISSR. Les amorces utilisées ont généré des profils génétiques assez informatifs pour chacune des lignées. L'analyse statistique des données moléculaires recueillies a établi sans ambiguïté des différences entre les lignées d'une part et entre les lignées et le témoin d'autre part. En outre, l'apparition de nombreux nouveaux loci chez les lignées mutantes comparées à la variété mère témoigne de l'effet significatif de l'irradiation. De toute évidence, le potentiel de résistance à la sécheresse mis en évidence chez ces lignées mutantes proviendrait de certains de ces nouveaux loci.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Le maïs fait partie des céréales les plus cultivées en Côte d'Ivoire et occupe une place importante dans l'alimentation humaine et animale. Cependant, des problèmes liés au déficit hydrique, l'une des conséquences du changement climatique, affectent considérablement la production de cette céréale. Pour faire face à cette contrainte et améliorer de façon durable sa production, la présente étude a été initiée. Elle visait à créer de nouvelles lignées de maïs résistantes à la sécheresse par usage de la mutation induite au rayonnement gamma.

Nos résultats ont montré qu'après irradiation des semences de la variété EV8728, 264 lignées mutantes ont été développées par la sélection généalogique. De ces lignées, une sélection participative a permis de choisir 61, dont 37 ont été retenues pour la suite des travaux.

La caractérisation phénotypique de ces 37 lignées a révélé des différences significatives non seulement entre les lignées choisies, mais aussi entre celles-ci et le témoin non-irradié. Ce résultat traduit l'efficacité de l'irradiation gamma pour générer une variabilité phénotypique chez le maïs. Ainsi, l'examen des différences observées, a révélé chez certaines lignées, un gain significatif par rapport au témoin pour certains caractères, notamment, la précocité et la vigueur. Aussi, la forte diversité génétique exprimée a été structurée en sept groupes par l'analyse en composantes principales et la classification hiérarchique ascendante. Cette structuration de la diversité a montré pour chaque groupe des traits spécifiques intéressants à savoir la précocité et la vigueur. Ces groupes ont donc été considérés comme des réservoirs de gènes utilisables pour l'amélioration du maïs.

S'agissant du potentiel de résistance au déficit hydrique des lignées, les résultats ont montré que les lignées L22, L27 et L37 présentent des potentialités de résistance à la sécheresse largement supérieures aux témoins résistants testés. De plus, les lignées L25, L26, L29, L30 et L33 ont présenté un potentiel de résistance à la sécheresse similaire aux témoins résistants. Ces 8 lignées représentent dès lors un matériel végétal de grande valeur agronomique pour l'amélioration du maïs.

Enfin, une différenciation moléculaire des lignées potentiellement résistantes a été réalisée au moyen des marqueurs ISSR. Cette analyse a révélé une nette distinction génétique entre ces lignées mutantes. L'analyse a également mis en exergue l'apparition de nombreux nouveaux loci chez ces lignées qui témoignent de l'effet significatif de l'irradiation. Ces nouveaux loci pourraient être à la base du potentiel de résistance à la sécheresse exprimé par ces lignées.

Perspectives

Au regard des résultats de ce travail, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- procéder à des tests multi-locaux, surtout en régions de faibles pluviométrie afin de vérifier le potentiel de résistance des lignées développées en milieu réel ;
- approfondir l'étude moléculaire avec d'autres types de marqueurs (SSR, SNP, etc...) pour identifier et localiser les mutations créées et celles responsables de la résistance au stress hydrique ;
- élucider les caractères autres que la résistance au déficit hydrique qui pourraient être liés à certaines des bandes uniques observées ;
- mettre en place un programme de sélection assistée par marqueurs moléculaires visant l'introgession du caractère de résistance à la sécheresse des lignées mutantes dans les variétés commerciales à haut rendement disponibles.

RÉFÉRENCES

- Abdalla E., Bakhit O. & Elsheikh S. (2018). Groundnut Mutants with End-of-season Drought Tolerance for the Marginal Dry Lands of North Kordofan State, Sudan. FAO/IAEA International Symposium on Plant Mutation Breeding and Biotechnology, Vienna, Austria, 27-31.
- Abdelazi M.S., Medraoui L., Alami M., Pakhrou O., Makkaoui M., Ould M.S.B.A. & Filali-Maltouf A. (2020). Inter simple sequence repeat markers to assess genetic diversity of the desert date (*Balanites aegyptiaca* Del.) for Sahelian ecosystem restoration. *Scientific reports*, 10(1): 1-8.
- Abdikafi H.A., Mohamed O.S. & Dhaqane R.H. (2024). Exploring climate change resilience of major crops in Somalia: implications for ensuring food security. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 22: 1-24.
- Achour A., Bidai Y. & Belkhodja M. (2015). L'impact de la salinité sur le comportement hydrique et métabolique d'une variété de Gombo (*Abelmoschus esculentus* L.). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12(4): 943-953.
- Adjeneg S. & Belouadeh L. (2022). Evaluation des performances agronomiques de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum*) dans l'étage bioclimatique semi-aride des hautes plaines intérieures. Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, University Mohamed El Bachir El Ibrahimi of Bordj Bou Arreridj El-Anasser, Algérie, 53p.
- Agbodan K.M.L., Akpavi S., Agbodan K.A., Kanda M., Amegnaglo K.B., Adrou-Aledji A., Batawila K. & Akpagana K. (2020). Description agromorphologique et détermination du potentiel antioxydant des variétés sous-utilisées et nouvellement introduites de maïs, manioc, niébé et piment dans la région Maritime-Est du Togo. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 20(3): 15936-15953.
- Ahloowalia B.S., Maluszynski M. & Nichterlein K. (2004). Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135: 187-204.
- Ahmad P., Supriyanto S. & Arum S.W. (2022). Effects of Gamma Ray Irradiation to Induce Genetic Variability of Teak Planlets (*Tectona grandis* L.). *Journal of Sylva Indonesiana*, 5(1): 10-21.

- Ahmed A.Q., Salman A.Y., Hassan A.B., Abojassim A.A. & Mraity A.HA. (2020). The impact of Gamma Ray on DNA molecule. *International journal of radiation oncology* 6 (1): 011-013.
- Ahouyao J., Bouafou Kouamé G.M. & Amani Y.C. (2022). Food habits of rural people in ivory coast. *International Journal of Advanced Research*, 10(05): 701-715.
- Aissa N. & Radhouane L. 2014. Importance du statut hydrique et de l'indice chlorophyllien de la feuille drapeau du Sorgho (*Sorghum vulgare* L.) dans l'élaboration du rendement grainier en présence de contraintes hydriques et salines. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 10:111-117.
- Akanvou L., Akanvou R. & Toto K., (2006). Effets des variétés de maïs et de légumineuses dans la lutte contre *Striga hermontica* en zone de savane en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 18(1) : 13-21.
- Akyüz F., Yıldırım A., Yıldırım F., San B., Karakurt Y., Çelik C. & Önder S. (2020). Effects of water stress on leaf antioxidant enzymes activities and protein contents in five *Prunus* rootstocks. *Acta horticulturae*. 1281 : 369-376.
- Albergaria E. T., Albuquerque U. P. & Oliveira A. F. M. (2020). L'effet du stress dû au déficit hydrique sur la composition des composés phénoliques des plantes médicinales. *Journal sud-africain de botanique*, 131(11) : 12-18.
- Alem C. & Ameri, (2005). Importance de la stabilité des membranes cellulaire dans la tolérance à la salinité chez l'orge. *BioAlliance*, 4(1) : 20-31.
- Alexandridis N., Feit B., Kihara J., Luttermoser T., May W., Midega C., Oborn I., Poveda K., Sileshi G.W., Zewdie B., Clough Y. & Jonsson M. (2023). Climate change and ecological intensification of agriculture in sub-Saharan Africa – A systems approach to predict maize yield under push-pull technology. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 352: 1-14.
- Alhaji S.S. & Saganuwan A. (2010). Some medicinal plants of Arabian Peninsula. *Journal of medicinal plant research*, 4: 766-788.
- Ali Z., Xu Z.L, Zhang D.Y., He X.L, Bahadur S. & Yi J.X. 2011. Molecular diversity analysis of eggplant (*Solanum melongena*) genetic resources. *Genetics and Molecular Research*, 10: 1141-1155.

- Ali Z.S., Aslam M., Albaqami M., Ashraf A., Hassan A., Iqbal J., Maqbool A., Naeem M., Al-Yahyai R., & Tan K.Z.A. (2022). Gamma rays induced genetic variability in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) germplasm. *Saudi journal of biological sciences*, 29(5): 3300-3307.
- Aliyi R.S. (2017). Review Paper on Approaches in Developing Inbred Lines in Cross-Pollinated Crops. *Biochemistry and Molecular Biology*, 2(4): 40-45.
- Amigues J.P., Debaeke P., Itier B., Lemaire G., Seguin B., Tardieu F. & Thomas A. (2021). Sécheresse et agriculture. Réduire la vulnérabilité de l'agriculture à un risque accru de manque d'eau. Expertise scientifique collective, Rapport, INRA (France), 380 p.
- Amina Y. (2021). Les effets de l'exposition aux nanoparticules sur la germination et le développement d'un modèle alternatif végétal. Toxicologie. Thèse de Doctorat, Science de la Nature et de la Vie, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 201p.
- Amraul I., Shahidul A. & Maniruzzaman M.S.H. (2023). Microsatellite marker-based genetic diversity assessment among exotic and native maize inbred lines of Bangladesh. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30 :1-9.
- Anderson M., Schulze-Kraft R., Peters M., Hincapie B. & Lascano C. (2006). Morphological, agronomic and forage quality diversity of the *Flemingia macrophylla* world collection. *Field Crops Research*, 96: 387- 406.
- Ankita N., Liang-Jun Y., Chandan K.J. & Nilanjana D. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Hindawi*, 10: 1-19.
- Anter A. S. (2023). Induced Mutation to Enhance Plant Biodiversity and Genetic Resources for Intensification of Crop Production to Mitigate Climatic Changes. *IntechOpen*. 10 :1-33.
- Araus J.L., Villegas D., Aparicio N., Garcia D.M.L.F., Hani E.S., Rharrabti Y., Ferrio J.P. & Royo C. (2003). Breeding cereals for Mediterranean conditions: ecophysiological clues for biotechnology applications. *Annals of Applied Biology*. 142:129- 141.
- Argentel-Martínez L., Garatuza-Payan J., Yopez E.A. & Arredondo T., Dos Santos-Villalobos S. (2019). Water regime and osmotic adjustment under warming conditions on wheat in the Yaqui Valley, Mexico. *PeerJ*, 1: 1-15.
- Arisah H., Saptadi D., Ashari S., Agisimanto D. & Yulianti F. (2022). Disclosing the Genetic Diversity of 'Earlibrite' Strawberry Mutant Induced by Gamma-ray Irradiation Using

- ISSR Markers. 9th International Conference on Sustainable Agriculture and Environment. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science PP 1-7.
- Arvalis. (2012). Choisir le Maïs, Région basse-normandie, France. Bilan de campagne céréales, 2011-2012, pp. 60-67.
- Asaré A. T., Mensah F., Acheampong S., Asare-Bediako E. & Armah J. (2017). Effects of Gamma Irradiation on Agromorphological Characteristics of Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench.). *Advances in Agriculture*, 3: 1-7.
- Assi Y.F. (2023). Impact des Paramètres Climatiques sur la Production Rizicole dans les Différentes Régions de Côte d'Ivoire : Cas du Haut Sassandra, Goh, Poro, Tonkpi, Gbèkè, et N'zi. *European Scientific Journal*, ESJ, 19 (34) : 147-164.
- Assouhoun-Djeni N.M.C., Djeni N.T., Messaoudi S., Lhomme E., Koussemon-Camara M., Ouassa T., Chobert J.M., Onno B., & Dousset X. (2016). Biodiversity, dynamics and antimicrobial activity of lactic acid bacteria involved in the fermentation of maize flour for doklu production in Côte d'Ivoire. *Food Control journal homepage*, 62: 397-404.
- Atoui A. & Fergati M. (2019). Accumulation de la proline et des protéines totales chez quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf) cultivé sous condition de stress hydrique. Mémoire de Master, Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie, 56p.
- Azzi T.A. & Khouai Z. (2020). Amélioration de la tolérance des plantes au stress hydrique par traitement prégerminatif des graines de *Trigonella foenum-graecum* au silicium. Mémoire de Master, Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Sciences et de la Technologie « Houari Boumediene », Algérie, 68p.
- Bachiri H. (2020). Comportement de Quelques Génotypes de Blé Tendre (*Triticum aestivum* L.) Sous Différents Niveaux de Régime Hydrique et dans Deux Zones Agro-Climatiques Contrastées en Algérie (Subhumide et semi-aride). Thèse de Doctorat, Production Végétale, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach –Alger, Algérie, 213p.
- Balakrishnan N., Yusop S. M., Rahman I.A., Dauqan E. & Abdullah A. (2021). Efficacy of Gamma Irradiation in Improving the Microbial and Physical Quality Properties of Dried Chillies (*Capsicum annum* L.). *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(1): 1-18.
- Bamba B., Guèye M., Badiane A., N'Gom D. & Samba L.K.A. (2019). Effet de la date et de la densité de semis sur la croissance et le rendement en grain du mil tardif (*Pennisetum*

- glaucum* L. R. Br) dans les zones sud est et sud du Sénégal. *Journal of Applied Biosciences*, 138 : 14106 - 14122.
- Banza M.J., Mwamba K.F., Esoma E.B., Meta T.M., Mayamba M.G. & Kasongo L.M.E. (2019) Evaluation de la réponse du maïs (*Zea mays* L.) installé entre les haies de *Tithonia diversifolia* à Lubumbashi. *Journal of Applied Biosciences* 134 : 13643-13655.
- Barrière Yves Y. (2020). Le maïs et l'eau : une situation aujourd'hui paradoxale, mais des progrès génétiques à attendre d'un idéotype redéfini. *Fourrages, Hal Open Science*, 168: 477-489.
- Begna T. (2021). Conventional Breeding Methods Widely used to Improve Self- Pollinated Crops. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences*, 7(1): 1-16.
- Benmahammed A., Kribaa M., Bouzerzour H. & Djekoun A. (2008). Relationships between F2, F3 and F4-derived lines for above ground biomass and harvest index of three barleys (*Hordeum vulgare* L.) crosses in a Mediterranean-type environment. *Agricultural Journal.*, 3: 313-318.
- Benmakhlouf H. & Moulkaf R. (2021). Etude de quelques paramètres physiologiques et biochimiques des plantes de *Trigonella foenum-graecum* L. issues des graines ayant subi un chimioprimer par le silicium : Effet du stress hydrique. Mémoire de Master, Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Sciences et de la Technologie, Houari Boumediene, Algérie, 86p.
- Berka S. & Aïd F. (2009). Réponses physiologiques des plants d'*Argania spinosa* (L.) Skeels soumis à un déficit hydrique édaphique. *Sécheresse*, 20(3) : 296-302.
- Bidel L.P.R., Coumans M., Baissac Y., Doumas P., Jay-Allemand C. (2010) Biological Activity of Phenolics in Plant Cells, Recent Advances in Polyphenol Research, *Wiley-Blackwell*, 2: 163- 205.
- Bizouerne E. (2021). Contrôle génétique et moléculaire de la qualité germinative chez la tomate : rôle du développement de la graine et influence de la température. Thèse de Doctorat, : Institut de Recherche en Horticulture et Semences (IRHS), Institut National d'Enseignement Supérieur pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (Angers, France), 346p.

- Bodoharisoa O., Rabarison T.F. & Randdrianarison L.B. (2009). Amélioration variétale du maïs, 4ème Année Agriculture Ecole Des Sciences Appliquées et Gestion des Entreprises (ESSA), Abidjan, Côte d'Ivoire, 35 : 15-21.
- Boizot N. & Charpentier J-P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 4: 79-82.
- Bomblies K., Wang R.L., Ambrose B.A., Schmidt R.J., Meeley R.B. & Doebley J. (2005). Dupliquer les homologues FLORICAULA/LEAFY *zfl1* et *zfl2* contrôlent l'architecture de l'inflorescence et le dessin des fleurs dans le maïs. *Development*, 130 : 2385-2395.
- Boone P.S., Charles J.D. & Wanzie L. R. (2008). Évaluation sous régionale de la chaîne de valeur du maïs, rapport technique, ATP n°1. Bethesda (États-Unis), MD : projet ATP, *Abt Associates Inc*, 68 p.
- Bordes J., Vaulx R., Lapierre A. & Pollacsek M. (1997). Haplodiploidization of maize *Zea mays* L. Through induced gynogenesis assisted by glossy markers and its use in breeding. *Agronomie*, 17(5): 291-297.
- Borthakur D., Saikia J. & Roy S. (2017). Stomatal Density as a Selection Criterion for Developing Tea Varieties with High Physiological Efficiency. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 7(1) : 121-131.
- Boucenna F. & Belkhiri (2017). Effet de l'irrigation de complément sur quelques paramètres morpho-physiologiques et biochimiques de sept variétés du blé dur (*Triticum durum* Desf) cultivées à BBA (El Hamadia). Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, University Mohamed El Bachir El Ibrahimi of Bordj Bou Arreridj El-Anasser, Algérie, 77p.
- Bouchemal K., Bouldjadj R., Belbekri M.N., Ykhlef N. & Djekoun A. (2018). Pigments photosynthétiques, enzymes antioxydantes et potentiel osmotique foliaire de dix génotypes de blé dur (*Triticum durum*) : effet du stress hydrique. *Phytoprotection*, 98(1): 13-24.
- Boulahia H., Rouabhia F. & Tounsi S. (2020). Approche bibliographique de l'effet du stress hydrique sur la réaction oxydative chez les céréales, l'Orge. Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie, 73 p.

- Bousba R., Ykhlef N. & Djekoun, A. (2009). Water use efficiency and flat leaf photosynthetic in response to water deficit of durum wheat (*Triticum durum Desf.*). *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(5): 609-616.
- Bouzerzour H. & Benmahammed A. (2009). Variation in early growth, canopy temperature, translocation and yield of four durum wheat (*Triticum durum Desf.*) genotypes under semi-arid conditions. *Dirassat Journal of Agricultural Sciences*, 5 :142-154.
- Bradford. (1976). A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principal protein dye binding. *Analytical biochemistry*, 72: 248-254.
- Brookes G.B.P. & Barfoot P. (2020). Environmental impacts of genetically modified (GM) crop use 1996–2018: impacts on pesticide use and carbon emissions. *GM Crops & Food*, 11(4) :215–241.
- Burny P.H. (2011). Production et commerce mondiale en céréales en 2010 /2011 : Livre blanc << céréales>> ULg Gembloux Agro-bio tech et CRA-W, Gembloux (Belgique), 12p.
- Camargo, A.P., Roux, S., Schulz, F., Babinski M., Xu Y., Hu B., Chain P.S.G., Nayfach S. & Kyrpides N.C. (2023). Identification of mobile genetic elements with geNomad. *Nature Biotechnology*, 10: 1-23.
- Capot J. (1972). L'amélioration du Caféier en Côte d'Ivoire : les hybrides 'arabusta'. *Café Cacao Thé*, 16(1) : 3-18.
- Carlson C.S., Smith J.D., Stanaway J.D., Mark J.R. & Nickerson D.A. (2006). Direct detection of null alleles in SNP genotyping data. *Human Molecular Genetics*, 15 (12): 1931-1937.
- Cecerska-Heryć E., Krauze K. & Szczeńniak A. zyk A.G.M., Serwin N., Daria Ś.T., Jacek R., Heryć R., Michalczyk A. & Dołęgowska B. (2022). Activity of erythrocyte antioxidant enzymes in healthy women depends on age, BMI, physical activity, and diet. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 41(1): 1-14.
- Chahbar S. & Belkhodja M. (2016). Water deficit effects on osmolyts traits in five durum wheat varieties (*Triticum durum*). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 17: 757-767.
- Chaib G., Benlaribi M. & Hazmoune T. (2015). Accumulation d'osmoticums chez le blé dur (*triticum durum desf.*) sous stress hydrique. *European Scientific Journal*, 11(24) :378 – 395).

- Charcosset & Gallais A. (2009). Emergence et développement du concept de variétés hybrides chez le maïs. *Le Sélectionneur Français*, 60 : 21-30.
- Cha-Um S., Yooyongwech S. & Supaibulwatana K. (2010). Water deficit stress in the reproductive stage of four indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *Pakistan Journal of Botany*, 42: 3387-3398.
- Chenafi H., Aïdaoui A., Bouzerzour H. & Saci A. (2006). Yield response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivar Waha to deficit irrigation under semi-arid growth conditions. *Asian Journal of Plant Sciences*, 5: 854-860.
- Cheyrier V., Comte G., Davies K.M., Lattanzio V. & Martens S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 72: 1-20.
- Cinyabuguma E.L., Mukunda M., Abe G.M., Batumike R., Baderhekuguma X., Kashosi N., Tshamoba M., Balola K. & Kashamuka M. (2018). Evaluation of the growth and performance of some of the maize variety in introduction in the ecology of mulungu. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 9(8): 419-432.
- CIRAD-GRET, (2002). Mémento de l'agronome. Ministère des affaires étrangères, édition CIRAD-GRET, Montpellier, France, 1692 p.
- CNRA (2006). Bien cultiver le maïs en Côte d'Ivoire, 4p. <https://www.yumpu.com/en/document/read/53932597/bien-cultiver-le-mais-en-cote-divoire>. Consulté le 19/12/2024.
- Coulibaly S., Kouassi N. J., Zoro B.I.A., & Kabran A.F.R. (2014). Effet des rayons gamma sur le rendement et quelques caractères agromorphologiques de cultivars de manioc (*Manihot esculenta* C) en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 20(1) : 3042-3050.
- Cronquist A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York, 1262 p.
- Cruz J.F., Hounhouigan D.J. Havard M., Ferré T., 2019. La transformation des grains. Collection Agricultures tropicales en Poche, Quæ, Presses agronomiques de Gembloux (Belgique), 182 p.
- Dabija A., Ciocan M.E., Chetrariu A. & Codină G.G. (2021). Maize and Sorghum as Raw Materials for Brewing, *Applied Sciences*, 11: 2-24.

- Daniel V.M., Julia B., Heike L., Wolfram J. & Frank M. (2021). Breeding synthetic varieties in annual caraway: observations on the outcrossing rate in a polycross using a high-throughput genotyping system. *Euphytica*, 217(1): 1-15.
- Darkwa K., Agre P., Olasanmi B., Iseki K., Matsumoto R., Powell A., Bauchet G., Koeyer D.D., Muranaka S., Adebola P., Asiedu R., Terauchi R. & Asfaw A. (2020). Comparative assessment of genetic diversity matrices and clustering methods in white Guinea yam (*Dioscorea rotundata*) based on morphological and molecular markers. *Scientific Reports*, 10 : 1-14.
- De Vienne & Santoni S. (1998). Les principales sources de marqueurs moléculaires. In : Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologie végétales. Institut national de la recherche agronomique, Paris (France) 15-47.
- Dechaumet S. (2018). Dissection métabolique de la sénescence foliaire et de la remobilisation des nutriments chez le colza (*Brassica napus*). Thèse de Doctorat, Biologie végétale. Agrocampus Ouest, Université de Rennes 1, France, 393 p.
- Decker-Walters D., Staub J., López-Sesé A. & Nakata E. (2001). Diversity in landraces and cultivars of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*; Cucurbitaceae) as assessed by Random Amplified Polymorphic DNA. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48: 369–380
- Dedi née K.Y J., Gbéhé S. & Youo D.C. (2017). Caractérisation de neuf échantillons de farine de maïs *Zea mays* L. vendus sur les marchés d'Adjamé, Yopougon et Abobo en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 115: 11434-11440.
- Deffan K.P., Akanvou L., Akanvou R., Nemlin G.J. & Kouame P.L. (2015). Evaluation morphologique et nutritionnelle de variétés locales et améliorés de maïs (*Zea mays* L.) produites en Côte d'Ivoire. *Afrique science*, 11(3) : 181-196.
- Déjardin A., Sokolov L.N., & Kleczkowski L. A. (1999). Sugar/osmoticum levels modulate differential abscisic acid-independent expression of two stress-responsive sucrose synthase genes in *Arabidopsis*. *Biochemical Journal*, 344(2) : 503–509.
- Desclos M, (2020). Modifications physiologique et protéomique associées à la remobilisation de l'azote foliaire au cours de la sénescence séquentielle chez le colza (*Brassica Napus* L.). Thèse de Doctorat, Sciences du Vivant, Université de Caen Basse Normandie, France, 320 p.

- Djibo H.E.H. & Lei J. (2014). Effet de l'irradiation gamma des semences de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) sur la résistance au NaCl et l'accumulation de la proline dans les feuilles. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(4): 1517-1523.
- Djinet A. I., Bell J. M., Nana R., Nguinambaye M. M. & Tamini Z. (2016). Évaluation des caractéristiques des stomates chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of Applied Biosciences*, 104: 9904 – 9910.
- Dooner H.K., Wang Q., Huang J.T., Li Y., He L., Xiong W. & Du C. (2019). Spontaneous mutations in maize pollen are frequent in some lines and arise mainly from retrotranspositions and deletions. *Agricultural Sciences*, 116(22): 10734–10743.
- Dos Santos C.S., De Freitas A.F., Da Silva G.H.B., Pennacchi J.P., Figueiredo de Carvalho M.A., Santos M.d.O., Junqueira de Moraes T.S., De Rezende Abrahão J.C., Pereira A.A. & Carvalho G.R. (2023). Phenotypic Plasticity Index as a Strategy for Selecting Water-Stress-Adapted Coffee Genotypes. *Plants*, 12: 1-16.
- Dos Santos T.B., Ribas A.F., De Souza S.G.H., Budzinski I.G.F. & Domingues D.S. (2022). Physiological Responses to Drought, Salinity, and Heat Stress in Plants. *Stresses*, 2 : 113 –135.
- Dossa E.N., Shimelis H., Mrema E., Shayanowako A.I.T. & Laing M. (2023) Genetic resources and breeding of maize for Striga resistance: a review. *Frontiers in Plant Science*, 14:1-23.
- Dreir & Goring M. (1974). Der einfluss hoher salzkonzentrationen auf verschiedene physiologische parameter von maisswurzeln, *Zeitschrift für Naturwissenschaften*, 23: 641-644.
- Du L., Zhang H., Xin W., Ma K., Du D., Yu C., & Liu Y. (2021). Dissecting the Genetic Basis of Flowering Time and Height Related-Traits Using Two Doubled Haploid Populations in Maize. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(8): 1-13.
- Du Y., Feng Z., Wang, J., Jin W., Wang Z., Guo T., Chen Y., Feng H., Yu L., Li W. & Zhou L. (2022). Frequency and Spectrum of Mutations Induced by Gamma Rays Revealed by Phenotype Screening and Whole-Genome Re-Sequencing in *Arabidopsis thaliana*. *International journal of molecular sciences*, 23(2): 1-22.

- Du Y., Hase Y., Satoh K. & Shikazono N. (2020). Characterization of gamma irradiation-induced mutations in Arabidopsis mutants deficient in non-homologous end joining. *Journal of Radiation Research*, 5 (61) : 639–647.
- Duan B., Kang T., Wan H., Liu W., Zhang F., Mu S., Guan Y., Li Z., Tian Y. & Kang X. (2023). Microsatellite markers reveal genetic diversity and population structure of *Portunus trituberculatus* in the Bohai Sea, China. *Scientific Reports*, 13:1-13.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J. K., Rebers P.A. & Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Annalical Chemistry*, 28: 350-356.
- Durand E., Bouchet S., Bertin, P., Ressayre A., Jamin, P., Charcosset A., Dillmann C. & Tenailon M.I. (2012). Flowering Time in Maize: Linkage and Epistasis at a Major Effect Locus. *Genetics*, 190: 1547–1562.
- El-Hosary A.A.A. & El-Akkad T.A. (2018). Genetic diversity of maize inbred lines using ISSR markers and its implication on quantitative traits inheritance. *Arab Journal of Biothechnology*, 18(2) :81-96.
- El-Khateeb, M. A., Eid, R. A., Mahfouze, H. A., Ashor, H. A., & Mabrouk, R. M. (2017). Induction of mutation with gamma radiation in *Helichrysum bracteatum* L. and identification of mutants by molecular markers. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 6(2): 282–293.
- El-Ramady H., Abdalla N., Kovács S., Domokos-szabolcsy E., Bakonyi N., Fári M. & Geilfus C-M. (2020). Alfalfa Growth under Changing Environments: An Overview. *Environment Biodiversity and Soil Security*, 4(20): 200-224.
- Essy K.J.F., Kouassi N.J., Kouamé N. & Kouadio Y.J. (2022). Influence of the Year and Growing Area on Maize (*Zea mays* L.) Production in the Central and North-Central Zones of Côte d’Ivoire (Departments of Bouake and Katiola). *American Journal of Plant Sciences*, 13: 1116-1125.
- Eun C-H, Ko J-G. & Kim I-J. (2024). Characterization of a New Citrus Mutant Induced by Gamma Irradiation with a Unique Fruit Shape, Gwonje-Early, and Determination of Specific Selection Markers Using Allele-Specific PCR. *Plants*, 13(6): 1-11.
- Fagherazzi A.F., Suek Z.D.; Soares dos Santos M.F. Martins de Lima, J., Welter P.D.; Richter F. A.; Regianini N.F.; Anneliese K.A., Rufato L. & Baruzzi G. (2021). Initial Crown

- Diameter Influences on the Fruit Yield and Quality of Strawberry Pircinque. *Agronomy*, 11(184): 1-15.
- FAO (Food and Agriculture Organisation) (1995). Production year book.FAO, Rome (Italy) 49p.
- FAO/AIEA. (2020). Manuel d'amélioration des plantes par mutation- Troisième édition. Sous la supervision de M.M. Spencer-Lopes, B.P. Forster & L. Jankuloski. Vienne, Autriche, 270p.
- FAO/IAEA (2023). Mutant Variety Database. Retrieve from: <https://mvd.iaea.org/> , consulté le 11/06/2024.
- FAOSTAT (2023). Statistical Database of the Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO, Rome. <http://faostat.fao.org/faostat/>. Consulté le 20/06/2024.
- Fernane-Meliani S., Abdellaoui Z., Akretche-Kelfat S., Brahmi F. & Ancer B. (2021). Influence des rayons gamma sur les paramètres morphologiques et agronomiques de semences d'une variété de blé tendre cultivée en Algérie. *African Journal Food Agriculture, Nutrition and Development*. 21(9) : 18767-18783.
- FIRCA (2013). La Filière du Progrès. Bulletin d'information du Fonds Interprofessionnel pour la Recherche et le Conseil Agricoles. Numéro 11 du 2ème trimestre, 44 p.
- Flagella Z., Giuliani M.M., Giuzio L., Volpi C. & Masci S. (2010). Influence du déficit hydrique sur la composition protéique de stockage du blé dur et sa qualité technologique. *Journal Agronomy*, 33 (3) : 197-207.
- Fosu-Mensah B.Y., Manchadi A. & Vlek P.L.G. (2019). Impacts of climate change and climate variability on maize yield under rainfed conditions in the sub-humid zone of Ghana: A scenario analysis using APSIM. *West African Journal of Applied Ecology*, 27(1): 108-126.
- Garutti M., Nevola G., Mazzeo R., Cucciniello L., Totaro F., Bertuzzi C. A., Caccialanza R., Pedrazzoli P., & Puglisi F. (2022). The Impact of Cereal Grain Composition on the Health and Disease Outcomes. *Frontiers in nutrition*, 9:1-24.
- Gaufichon L., Prioul J-L., Bachelier B. (2010). Perspectives d'amélioration des plantes tolérantes à la sécheresse. Rapport FARM, Paris (France), 60 p.
- Gebremedhin W. (2015). Synthetic Varieties: History, Development and Applications in Crop Improvement. *Advances in Life Science and Technology*, 32: 23-29.

- Ghanim A.M.A. (2024). Physical Mutagenesis in Cereal Crops. In: Ghanim, A.M.A., Sivasankar, S., Rich, P.J. (eds) Mutation Breeding and Efficiency Enhancing Technologies for Resistance to Striga in Cereals. *Springer*, Berlin, Heidelberg (Allemagne), 13-27.
- Goalbaye T., Toukam G.S.M., Diallo M.D., Kapagnon B.H. & Guisse A. (2019). Evaluation des performances agronomiques des variétés améliorées de maïs (*Zea mays* L.) en milieu paysan dans la zone soudanienne du Tchad. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 41 (3) : 6977-6988.
- González-Espíndola L.Á., Pedroza-Sandoval A., Trejo-Calzada R., Jacobo-Salcedo M.D. R., García de Los Santos G., & Quezada-Rivera J.J. (2024). Relative Water Content, Chlorophyll Index, and Photosynthetic Pigments on *Lotus corniculatus* L. in Response to Water Deficit. *Plants*, 13(7): 961.
- González-Villagra J., Reyes-Díaz M. M., Tighe-Neira R., Inostroza-Blancheteau C., Escobar A. L. & Bravo, L. A. (2022). Salicylic Acid Improves Antioxidant Defense System and Photosynthetic Performance in *Aristotelia chilensis* Plants Subjected to Moderate Drought Stress. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(5):
- Granado-Rodríguez S., Vilariño-Rodríguez S., Maestro-Gaitán I., Matías J., Rodríguez, M. J., Calvo P., Cruz V., Bolaños L. & Reguera M. (2021). Genotype-Dependent Variation of Nutritional Quality-Related Traits in Quinoa Seeds. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(10): 1-22.
- Gupta P. Singh. A. Kumar A., Suman P., Dinkar D. & Dwivedi N. (2023). Hybrid, Synthetic and Composite Varieties. In: *Modern Enhancement in Crop Production*, Elite Publishing House, Chapter 10. Bihar (Inde), 39-153.
- Hammad S.A.R. & Ali O.A.M. (2014). Physiological and biochemical studies on drought tolerance of wheat plants by application of amino acids and yeast extract. *Annals of Agricultural Sciences*, 59 : 133-145.
- Hamza H. & Ferchichi A. (2020). Les études moléculaires sur le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of oasis Agriculture and Sustainable Development*, 2 (1): 1-11.
- Hanson S.J. & Wolfe K.H. (2017). An Evolutionary Perspective on Yeast Mating-Type Switching. *Genetics*, 206(1) : 9-32.
- Harry M. (2001). Génétique moléculaire et évolutive. Editions Maloine, Paris (France), 39 p.

- Hasan N., Choudhary S., Naaz N., Sharma N. & Laskar R. A. (2021). Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 19(1): 2-26.
- Hasanuzzaman M., Zhou M. & Shabala S. (2023). How Does Stomatal Density and Residual Transpiration Contribute to Osmotic Stress Tolerance? *Plants*, 12(494): 1-19.
- Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1) : 3-6.
- Henseler J. & Schuberth F. (2020). Using Confirmatory Composite Analysis to Assess Emergent Variables in Business Research. *Journal of Business Research*, 120: 147-156.
- Holme I. B., Gregersen P. L. & Brinch-Pedersen H. (2019). Induced Genetic Variation in Crop Plants by Random or Targeted Mutagenesis: Convergence and Differences. *Frontiers in plant science*, 10(1468): 1-9.
- Hongbete F., Kindossi J.M., Hounhouigan J.D. & Nago M.C. (2017). Production et qualité nutritionnelle des épis de maïs frais bouillis consommés au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(5): 2378-2392.
- Hooghvorst I. & Nogués S. (2021). Chromosome doubling methods in doubled haploid and haploid inducer-mediated genome-editing systems in major crops. *Plant cell reports*, 40(2): 255–270.
- Hoopen M.E.T. & Maïga A. (2012). Production et transformation du maïs. Collection Pro-agro, Douala (Cameroun), 29 p.
- Horn L.H., Shimelis H.A., Sarsu F., Mwadzingeni L. & Laing M.D. (2018). Genotype-by-environment Interaction for Grain Yield Among Novel Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Selections Derived by Gamma Irradiation. *The Crop Journal*, 6(3): 306-313.
- Hossain A., Sajjad H., Karim R. (2020). Molecular Markers: Indispensable Tools for Genetic Diversity Analysis and Crop Improvement Biotechnology. *International Journal of Plant Breeding and Crop Science*. 7(1): 613-623.
- Hou J., Liu X., Zhang J., Wei Z., Ma Y., Wan H., Liu J., Cui B., Zong Y., Chen Y., Liang K. & Liu F. (2023). Combined application of biochar and partial root-zone drying irrigation improves water relations and water use efficiency of cotton plants under salt stress. *Agricultural Water Management*, 290: 1-17.

- Hussain SS. (2006). Molecular breeding for abiotic stress tolerance: drought perspective. *Pakistan Academy of Sciences*, 43:189–210.
- Ighodaro O.M. & Akinloye O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4): 287-732.
- Intani Q. & Laurentius H. (2022). Morphological Characters and Plant Pigments Content of Three Varieties of Chrysanthemum Induced by Paclobutrazol. *Treatments Advances in Biological Sciences Rsssesearch*, 22 : 96-116.
- IPGRI (1991). Descripteurs pour le maïs. CIMMYT/IBPGR, Rome, Italie, 88 p.
- Iqbal Z., Iqbal M.S., Hashem A., Abdallah E.F, & Ansari M.I. (2021) Plant Defense Responses to Biotic Stress and Its Interplay with Fluctuating Dark/Light Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 12 : 1-22.
- Irié B.T.P. (2022). Différenciation phénotypique et moléculaire de quinze lignées de maïs (*Zea mays* L.) développées à Daloa (Côte d'Ivoire) par la mutation induite. Mémoire de Master en Bioressources et Amélioration, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé Daloa, Côte d'Ivoire, 50 p.
- Jacquier N., Gilles L., Pyott D., Martinant J.P., Rogowsky P. & Widiez T. (2020). Puzzling out plant reproduction by haploid induction for innovations in plant breeding. *Nature Plants*, 6 (6): 610-619.
- Jiménez P., Jaime R., Tello G., Ana M., Bastidas R., Martha E., Castro C. & Angelo R. (2015). Utilisation de *Zea mays* L. à la fin du neuvième millénaire dans la région de Cubilán, sur les hauts plateaux de l'Équateur, révélée par des amidons anciens. *International quaternaire*, 404: 137-155.
- Kabongo T, Mbuya K., Pongi K., Mumba D. & Kizungu V. (2016). Stress tolerance indexes of Maize (*Zea mays* L.) grown in the southwestern savannah in the Democratic Republic of Congo. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 26(1): 355-360.
- Kabongo T.J.P. (2018). Évaluation de la sensibilité aux stress hydriques du maïs (*Zea mays*) cultivé dans la savane du sud-ouest de la République Démocratique du Congo, cas de mvuazi. Thèse de Doctorat, Sciences Agronomiques, Université Pédagogique Nationale Kinshasa (République démocratique du Congo), 162 p.

- Kadri A. (2018). Déterminisme génétique des caractères de "fitness" en condition de stress hydrique chez *Medicago truncatula*. Thèse de Doctorat, Sciences Agronomiques, École Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach, Alger, Algérie, 132 p.
- Kahriman F., Egesel C.Ö., Cebeci R., Demir A. & Bayraktar S. (2015). Genetic Analysis of Flowering in Maize based on Calendar and Thermal Time. *Araştırma Makalesi/Research Article (Original Paper)*, 25(2) : 193- 199.
- Kakou M.A. (2011). Analyse et amélioration de la production et de la commercialisation du maïs à Daloa, Côte d'Ivoire. Mémoire de Master, Université de Liège (Belgique), 60p.
- Kardel F., Wuyts K., Babanezhad M., Vitharana U.W.A., Wuytack T., Potters G. & Samson R. (2010). Assessing urban habitat quality based on specific leaf area and stomatal characteristics of *Plantago lanceolata* L. *Environmental Pollution*, 158: 788 -794.
- Karl J.R., (2012). "Le nombre maximal de feuilles de la sous-espèce de maïs". *Le bulletin de coopération sur la génétique du maïs*, 86(4) : 1090-4573.
- Kastler G. (2017). Nouvelles biotechnologies : questionnements éthiques et conséquences économiques et sociales sur l'agriculture et la biodiversité. *Annales des Mines - Réalités industrielles*, 1 : 99-102.
- Katiyar P., Pandey N. & Keshavkant S. (2022). Gamma radiation A potential tool for abiotic stress mitigation and management of agroecosystem. *Plant Stress* 5, 1-11.
- Kato T., Sakamoto K., Ohmori R. & Okui A. (2023). High Maize Productive Rural Inland Areas: Ample Staple Food, But What About Health? In: Changing Dietary Patterns, Indigenous Foods, and Wild Foods, Springer, Singapore, Inde, 151-172.
- Kenzy M.Z. & Wahaj M. (2015). Etude sur l'alimentation du poulet de chair à base du maïs. Mémoire pour l'obtention du diplôme Master en Agronomie option Technologie des industries agroalimentaires, Université Abou-BakrBelkaid, Tlemcen, Algérie, 65p.
- Khah M.A. & Verma R.C. (2015). Assessment of the effects of gamma radiations on various morphological and agronomic traits of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *European Journal of Experimental Biology*, 5(7): 6-11.
- Khan A., Pan X., Najeeb U., Tan D. K. Y., Fahad S., Zahoor R., & Luo H. (2018). Coping with drought: stress and adaptive mechanisms, and management through cultural and molecular alternatives in cotton as vital constituents for plant stress resilience and fitness. *Biological research*, 51(1): 1-17.

- Khalilzadeh R. Sharifi R.S. & Jalilian J. (2016). Antioxidant status and physiological responses of wheat (*Triticum aestivum* L.) to cycocel application and bio fertilizers under water limitation condition. *Journal of Plant Interactions*. 11: 130-137.
- Kharkwal M.C. & Shu Q.Y. (2009). The Role of Induced Mutations in World Food Security. In: Shu, G.Y., Ed., *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italie, 33-38.
- Kikakedimau N.R., Kongo Z.H., Mikodi M.A. & Dumas P. (2022). Gamma Radiation Effects (Cs137) on the Local Variety Culture of Corn (*Zea mays* L.) Under Ecological Conditions of Kenge. *European Journal of Agriculture and Food Sciences*, 4(1): 33-38.
- Kim S. & Misra A. (2007). SNP genotyping: technologies and biomedical applications. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 9: 289-320.
- Kim Y.N., Khan M.A., Kang S.M., Hamayun M. & Lee I.J. (2020). Enhancement of Drought Stress Tolerance of *Brassica oleracea* var. italica L. by Newly Isolated Variovorax sp. YNA59. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(10): 1500-1509.
- Koffi K.E., Diabaté S., Traoré S. & N'Cho Y.P. (2013). Création de variétés de cocotier (*Cocos nucifera* L.) résistantes au jaunissement mortel par mutagenèse induite aux rayons gamma. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 20(1) : 23-30.
- Koffi N. A., Barima Y. S. S., Angaman D. M. & Dongui B. K. (2014). Les caractéristiques des stomates des feuilles de *Ficus benjamina* L. comme bioindicateurs potentiels de la qualité de l'air dans la ville d'Abidjan (Côte d'Ivoire). *Journal of Applied Biosciences*, 78: 6675 - 6684.
- Konan N.O., Akaffou M., Kouadio L., Akaffou D.S. & Mergeai G. (2020). Genetic diversity of exotic and local eggplants (*Solanum* spp.) cultivated in Côte d'Ivoire based on ISSR markers. *Biodiversitas*, 21(8): 3650-3657.
- Korgaonkar S. & Bhandari R. (2023). Drought Stress in Plants: Effects and Tolerance. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 19(1): 5-17.
- Kostandini G., La Rovere R. & Zhe G. (2015). Ex ante welfare analysis of technological change: the case of nitrogen efficient maize for African soils. *Canadian Journal Agricultural*, 10(11) : 12-67.

- Kostandini G., La Rovere R. & Zhe G. (2015). Ex ante welfare analysis of technological change: the case of nitrogen efficient maize for African soils. *Canadian Journal Agricultural*, 10(11): 12-67.
- Kouakou C.K., Akanvou L., Zoro I.A., N'Da H.A. & Akanvou R. (2014). The Use of Genetically Tolerant Maize (*Zea mays* L.) in the Control of *Striga hermonthica* in Northern Côte d'Ivoire. *American Journal of Experimental Agriculture*, 4(5) : 563-574.
- Kouakou T.H. (2003). Contribution à l'étude de l'embryogénèse somatique chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) : Evolution de quelques paramètres biochimiques au cours de la callogénèse et de cultures de suspensions cellulaires. Thèse de doctorat 3^e cycle, Université cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire), 144p.
- Kouakou T.H. (2009). Embryogénèse somatique chez le cotonnier (*Gossypium hirsutum* L. *Malvaceae*) : variation des composés phénoliques au cours de la callogénèse et de la culture des suspensions cellulaires. Thèse de doctorat de Etat, Université d'Abobo-Adjamé (Abidjan, Côte d'Ivoire), 149p.
- Kouassi N. J., Kouassi A. B., & Sangaré A. (2005). Effets des rayons gamma sur le rendement et quelques caractères agromorphologiques du riz pluvial en Côte d'Ivoire. *Sciences & Nature*, 2(2) : 117-124.
- Kouassi N.J. & Dje, Y. (2009). Effets des rayons gamma sur le rendement et quelques caractères agromorphologiques du maïs en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences*, 24:1477-1484.
- Kouassi N. J., Zoro B.I.A., & Kouassi A.B. (2012). Création de variétés de manioc (*Manihot esculenta* C.) tolérantes à la sécheresse par mutagenèse aux rayons gamma en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 14(2) : 1939-1948.
- Kouassi N.J., Zoro B.I.A. & Kouassi A.B. (2016). Improvement of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) tolerance to drought by gamma-ray induced mutagenesis in Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 12(18): 235-247.
- Kouassi N.J. & Zoro B.I.A. (2018). Evaluation of some quantitative and qualitative traits of gamma-ray induced cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) mutants tolerant to drought in Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1): 528-541.

- Kumar S.P.J., Susmita C., Sripathy K.V., Agarwal D.K., Pal G., Singh A.N., Kumar S., Rai A.K. & Simal-Gandara J. (2022). Molecular characterization and genetic diversity studies of Indian soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivars using SSR markers. *Molecular biology reports*, 49(3): 2129–2140.
- Labroo M.R., Studer A.J. & Rutkoski J.E. (2021). Heterosis and Hybrid Crop Breeding: A Multidisciplinary Review. *Frontiers in Genetics*, 12: 1-19.
- Lakore, Y., Yadav, R., & Singh, D. (2023). Hybrid breeding in crop plants: Concepts, strategies, and applications. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1-11.
- Lans C. (2006). Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes Mellitus. *Journal of Ethnobiology Ethnomedicine*, 2(45): 102-207.
- Laopé A.C.S., Conde M., Bayala R., N’guettia T.V.F. & Kouadio A.F.B. (2020). Response of two local varieties of maize (*Zea mays* L.) to two types of fertilization in post-floral water deficit conditions in sudanian zone of Côte d’Ivoire. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 29(3): 443-455.
- Larekeng S., Qalbi N., Rachmat A., Iswanto I. & Restu M., (2022). Effect of gamma irradiated seeds of Jabon Merah (*Neolamarckia macrophylla* Wall.) Bosser) to genetic diversity. IOP Conference Series. *Earth and Environmental Science*. 1115 :1-8.
- Le Conte J. (1950). Le maïs hybride aux Etats-Unis d’Amérique : Archives de l’Institut des recherches agronomiques de l’Indochine, 187p.
- Lei Z.Y., Han J.M., Yi X.P, Zhang W.F. & Zhang Y.L. (2018). Coordinated variation between veins and stomata in cotton and its relationship with water-use efficiency under drought stress. *Photosynthetica*, 56 (4) : 1326-1335.
- Lewin, B. (1992). Gènes. Médecine-Sciences. Flammarion, Paris, (France), 762p.
- Li F., Shimizu A., Nishio T., Tsutsumi N., & Kato H. (2019). Comparison and Characterization of Mutations Induced by Gamma-Ray and Carbon-Ion Irradiation in Rice (*Oryza sativa* L.) Using Whole-Genome Resequencing. *G3 (Bethesda, Md.), National Center for Biotechnology Information*, 9(11): 3743-3751.
- Lichtenthaler H.K. (1987) Chlorophyll and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-382.

- Ligban R., Gone L. D., Kamagate B., Saley M. B & Biemi. J. (2009). Processus hydrogéochimiques et origine des sources naturelles dans le degré carré de Daloa (Centre ouest de la Côte d'Ivoire). *International Journal of Biology and Chemistry Science*, 3: 38-47.
- Liu F., Liu Y., Zou J., Zhang L., Zheng H., Luo Y., Wang X., & Wang L. (2023). Molecular Characterization and Efficacy Evaluation of Transgenic Maize Harboring *cry2Ab-vip3A-cp4epsps* for Insect Resistance and Herbicide Tolerance. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(3): 1-13.
- Lobell D.B., Bänziger M., Magorokosho C. & Vivek B. (2011). Nonlinear heat effects on African Maize as evidenced by historical yield trials. *Nature Climate Change*, 1: 42-45.
- Loewe L. & Hill W.G. (2010). The population genetics of mutations: good, bad and indifferent. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 365(1544): 1153–1167.
- Lopes N. D. S., Santos A. S., de Novais D.P.S., Pirovani C. P. & Micheli F. (2023). Pathogenesis-related protein 10 in resistance to biotic stress: progress in elucidating functions, regulation and modes of action. *Frontiers in plant science*, 14: 1-22.
- Lu B., An H., Song X., Yang B., Jian Z., Cui F., Xue J., Gao Z. & Du T. (2024). Enhancement of Nutritional Substance, Trace Elements, and Pigments in Waxy Maize Grains through Foliar Application of Selenite. *Foods*, 13: 2-18.
- Lübberstedt T., Beavis W. & Suza W. (2023). Marker Assisted Backcrossing. In: Suza W.P., & Lamkey K.R. (Eds.), *Molecular Plant Breeding*. Iowa State University (Etas-Unis), *Digital Press*, 33 p.
- Lundqvist U., Franckowiak J. & Forster B. (2012). Mutation categories. *Plant mutation breeding and biotechnology*. CABI, FAO, Oxfordshire, Angleterre, 47–55.
- Luo Q., Xie H., Chen Z., Ma Y., Yang H., Yang B. & Ma Y. (2023) Morphology, photosynthetic physiology and biochemistry of nine herbaceous plants under water stress. *Frontiers in Plant Science*, 8(230): 1-14.
- Ma L., Kong F., Sun K., Wang T. & Guo T. (2021). From Classical Radiation to Modern Radiation: Past, Present, and Future of Radiation Mutation Breeding. *Frontiers in Public Health*, 9 : 1-11.
- Maazouz A. & Abbas C. (2021). Caractérisation de la proline du stress hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.). Mémoire de Master, Faculté des Sciences de la Nature et de la

- Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, University Mohamed El Bachir El Ibrahimi of Bordj Bou Arreridj El-Anasser, Algérie, 52p.
- Machín A., Cotto M., Ducongé J. & Márquez F. (2023). Artificial Photosynthesis: Current Advancements and Future Prospects. *Biomimetics.*; 8(3): 1-44.
- Mackinney (G.), 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *Journal of Biological Chemistry*, 140 (2): 315-322.
- Madhava R.K.V., Raghavendra A.S. & Janardhan R.K. (2006). Printed in the Netherlands. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. *Springer* 1-14 p.
- Maël A. (2019). Diagnostic hydrique et estimation de la production de la culture de maïs : vers la mise en place d'un service tout temps. Thèse de Doctorat Université Paul Sabatier - Toulouse III, France, Sciences agricoles, 259 p.
- Mahamoud M.I. & El-Mansy A. (2012). Molecular identification of eggplant cultivars (*Solanum melongena* L.) using ISSR markers. *Journal of Applied Sciences Research*, 8. 69-77.
- Makgoba M.C., Tshikhudo P.P., Nnzeru L.R. & Makhado R.A. (2021). Impact of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) on small-scale maize farmers and its control strategies in the Limpopo province, South Africa. *Jambá - Journal of Disaster Risk Studies* 13(1): 1-9.
- Mangani R., Gunn K.M. & Creux N.M. (2023). Projecting the effect of climate change on planting date and cultivar choice for South African dryland maize production. *Agricultural and Forest Meteorology*, 341:1-13.
- Manirakiza D. (2020). Impact des coopératives agricoles des cultures vivrières sur les conditions de vie des ménages ruraux au Burundi : Cas des coopératives de la province de Ngozi. Thèse de doctorat, Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, Belgique, 236 p.
- Manon S. (2020). Caractérisation et optimisation d'une source plasma pour le traitement de semences dans le domaine agroalimentaire. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier-Toulouse III, France, 228p.
- Marchand J., Berthaud J., Clerget B., Dintinger J., Reynaud B. & Ozido J., (1997). Le maïs. L'amélioration des plantes tropicales, CIRAD, Office de la recherche scientifique et technique outre-mer (ORSTOM), 50, Paris (France), pp 401-427.
- Masoni A., Calamai., Marini L., Benedettelli & Palchetti E. (2019). Constitution of Composite Cross Maize (*Zea mays* L.) Populations Selected for the Semi-Arid Environment of South Madagascar. *Agronomy*, 10(54): 1-15.

- Matus I. & Hayes P. (2002). Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*, 45: 1095-1106.
- Mbiadjeu-Lawou S.P. Djangue N.M., Tegua K.G.A. Njoukou S., Tchindjang M. & Mama N. (2021). La variabilité climatique et ses effets sur la culture du maïs dans l'Arrondissement d'Obala. *Revue Espace Géographique et Société Marocaine*, 43(44) : 399-416.
- Medjahed N. & Rouane K. (2023). Etude du comportement variétal de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) vis-à-vis de stress hydrique. Mémoire de Master en Agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem, Algérie, 89 p.
- Mefti M. & Bouzerzour H. (2012). Étude des variations génétiques chez quelques variétés de fétuques élevées par les marqueurs AFLP. *Cahiers de l'Agriculture*, 21: 4-10.
- Mercer K.L. & Perales H. (2019). Structure of local adaptation across the landscape: flowering time and fitness in Mexican maize (*Zea mays* L.) landraces. *Genetic resources and crop evolution*, 66, 27–45.
- Merlin F. (2013). Chapitre 1. Variation et mutation génétique : une introduction. In : Merlin F. *Mutations et aléas : Le hasard dans la théorie de l'évolution*. Hermann, Paris (France) : 25-61.
- Micaelo E.B., Lourenço L.G.P.S., Gaspar P.D., Caldeira J.M.L.P. & Soares V.N.G.J. (2023). Bird Deterrent Solutions for Crop Protection: Approaches, Challenges, and Opportunities. *Agriculture*, 13 : 1-29.
- MINAGRI. (2010). Production céréalière en Côte-d'Ivoire, Document 1 du séminaire national sur les potentialités et les contraintes de la production céréalière en Côte-d'Ivoire, 55p.
- Minchin S. & Lodge J. (2019). Understanding biochemistry: structure and function of nucleic acids. *Essays in biochemistry*, 63(4): 433-456.
- Mishra N., Jiang C., Chen L., Paul A., Chatterjee A. & Shen G. (2023). Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in plant science*, 14: 1-18.
- Modolo A., Storck L., Trogello E. & Cassol L. (2013). Sample size determination for maize plants and cob traits under straw management at sowing. *Maydica*, 58: 151-155.
- Morgante M. & Olivieria A.M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal*, 3(1): 175-182.

- Mouffok A. & Belhamra M. (2020). Effect of water stress on Rhizobia symbiosis in Alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 12(1): 242-256.
- Mounir A.M., El-Hefny A.M., Mahmoud S.H. & El-Tanahy A.M.M. (2022). Effect of low gamma irradiation doses on growth, productivity and chemical constituents of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tubers. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(146): 2-7.
- Moussa A.A., Salako V.K., Gbemavo D.S.J.C., Zaman-Allah M., Kakaï R.G. & Bakasso Y. (2018). Performances agro-morphologiques des variétés locales et améliorées de maïs au sud-ouest du Niger. *African Crop Science Journal*, 26(2) : 157 – 173.
- Mugisho G.M., Ngalo L.M. & Lukeba F.N. (2024). Vulnerability and adaptation of maize smallholder farmers to climate change: a Sub-Saharan African context. *Discover Agriculture*, 2(10): 8-18.
- Mullins E., Bresson J.L., Dalmay T., Dewhurst I. C., Epstein M. M., Firbank L. G., Guerche P., Hejatko J., Moreno F. J., Naegeli H., Nogué F., Sánchez Serrano J. J., Savoini G., Veromann E., Veronesi F., Casacuberta J., Lenzi P., Munoz Guajardo I., Raffaello T. & Rostoks N. (2021). *In vivo* and *in vitro* random mutagenesis techniques in plants. *EFSA journal. European Food Safety Authority*, 19(11): 1-30.
- N'da H. A., AKanvou L. & Kouakou C. K. (2013). Gestion locale de la diversité variétale du maïs (*Zea mays* L.) violet Tagouana au Centre-Nord de la Côte d'Ivoire, *International Journal of Biology Chemical Science*, 7(5) : 2058-2068.
- N'Da H., Akanvou L., & Bi A. & Kouakou, C.K. (2015). Phenotypic diversity of farmer's traditional maize (*Zea mays* L.) Varieties in Cote d'Ivoire. *Maydica*. 60: 1-11.
- N'da A., Akanvou H.L. & Zoro B.I.A. (2016). Prospection, collecte, nomenclature paysanne et caractérisation des variables qualitatives des variétés locales de maïs (*Zea Mays* L.) cultivées en Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, *ESJ*, 12(24), 298-315.
- N'da H.A., Kouakou C.K. & N'cho A.L. (2022). Gestion post-récolte du maïs (*Zea mays* L.) au Nord de la Côte d'Ivoire : pratique paysanne et typologie des systèmes de stockage. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 16(6): 2658-2672.

- N'da H.A., N'cho A.L. & Akanvou L. (2023). Diversité morphologique et moléculaire des variétés locales de maïs (*Zea mays* L.) violet cultivées au Centre-Nord de la Côte d'Ivoire : implication à la conservation. *Journal of Applied Biosciences*, 191: 20245 – 20262.
- Nadal-Sala D., Grote R., Birami B., Knüver T., Rehschuh R., Schwarz S., & Ruehr N. K. (2021). Leaf Shedding and Non-Stomatal Limitations of Photosynthesis Mitigate Hydraulic Conductance Losses in Scots Pine Saplings During Severe Drought Stress. *Frontiers in plant science*, 12: 1-17.
- Nana R., Tamini Z. & Sawadogo M. (2009). Effets d'un stress hydrique intervenu pendant le stade végétatif et la phase de floraison chez le gombo. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 3(5): 1161-1170.
- Nanhapo P.I., Valombola J.S., Wanga M.A., Elungi K., Awala S.K. & Horn L.N. (2024). Optimum gamma radiation doses to enhance genetic diversity in selected cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes. *Reproduction and Breeding*, 4: 83-87.
- Navarro-Alvarez W., Baenziger P., Eskridge K., Hugo M. & Gustafson V.D. (2006). Addition of Colchicine to Wheat Anther Culture Media to Increase Doubled Haploid Plant Production. *Plant Breeding*, 112(3): 192 - 198.
- Nguinambaye M.M., Nana R., I. Djinet A. & Tamini Z. (2020). Quelques paramètres physiologiques et constituants biochimiques des organes de la lentille de terre (*Macrotyloma geocarpum*) en conditions de stress hydrique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(4): 1228-1240.
- Nickerson D.A., Tobe V.O. & Taylor S.L. (1997). PolyPhred: automating the detection and genotyping of single nucleotide substitutions using fluorescence-based resequencing. *Nucleic Acids Research*, 25 (14): 2745-2751.
- Nikiema M.P. (2021). Amélioration génétique du sorgho [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] pour la résistance à *Striga hermonthica* (Del.) Benth. au déficit hydrique par mutagenèse induite. Thèse de Doctorat, Sciences Biologiques Appliquées, Université Joseph KI-zerbo, Ouagadougou, Burkina Faso, 151p.
- Noel R. (2021). Maison de la Semence Paysanne Dordogne. https://maison-de-la-semence-paysanne-dordogne.netlify.app/img/kernel_color/epi.jpg. Consulté le 09/11/2024.

- Nordstrom T., Ronaghi M., Forsberg L., De Faire U., Morgenstern R. & Nyren P. (2000). Direct analysis of single-nucleotide polymorphism on double-stranded DNA by pyrosequencing. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 31 (2): 107-112.
- Obra G.B., Zipagan M.B. & Abigaile M.V.J. (2019). Effect of Gamma Irradiation on Coconut Leaf Beetle, *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera Chrysomelidae). *Philippine Journal of Science*, 149 (1): 175-181.
- Olaf E., Moti J., Kai S., Khondoker M. & Prasanna B.M. (2022). Global maize production, consumption and trade: trends and R&D implications. *Food Security*, 14:1295-1319.
- Oluwaranti A., Awosanmi F.E. & Amuda I.A. (2020). Genotypic Variation for Seed Physiological Quality and Agronomic Performance of Quality Protein Maize Genotypes. *Nigerian Journal of Seed Science*, 4(2): 53 - 65.
- Opong A, Prempeh R.N.A, Prempeh N., Abrokwah L., Annang E., Marfo E.A., Kubi Z., Danquah N., Agyekum A., Nsiah F.B., Appiah A., Lamptey J., Mochiah M. & Pita J. (2021). Cassava Mosaic Virus Disease in Ghana: Distribution and Spread. *Journal of Plant Physiology & Pathology*, 9(8): 1-15.
- Osipova L., Okello M.M., Njumbi S., Ngene S., Western D., Hayward M. & Balkenhol N. (2018). Fencing solves human-wildlife conflict locally but shifts problems elsewhere: A case study using functional connectivity modelling of the African elephant. *Journal of Applied Ecology*, 55 (6) : 2673-2684.
- Ouazzani C. & Moustaghfir A. (2020). Accumulation des sucres dans les tiges et les feuilles de différentes variétés de tournesol exposées à l'environnement salin. *Journal of Applied Biosciences*, 154: 15905 – 15912.
- Ouazzani N., Lumaret R., Villemur P. & Giusto Di F. (1993). Leaf allozyme variation in cultivated and wild olive trees (*Olea europaea* L). *Journal Heredity*, 84: 34-42
- Owoyele B., Negedu M., Olaniran S., Onasanwo S., Oguntoye S., Sanya J., Oyeleke S., Ibadapo. (2010). Analgesic and anti-inflammatory effect of aqueous extract of Zea mays husk in male Wistar rats. *Journal of Medicinal Food*, 13 (2): 343-347.
- Paes D.M.B., Carpinetti P. A., Fraga O.T., Rodrigues-Silva P.L., Fioresi V.S., de Camargos L. F. & Ferreira M.F.D.S. (2022). Abiotic Stresses in Plants and Their Markers: A Practice View of Plant Stress Responses and Programmed Cell Death Mechanisms. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(9): 1-25.

- Pan R., Liu J., Wang S. & Hu J. (2020). Peroxisomes: versatile organelles with diverse roles in plants. *New Phytologist*, 225(4): 1410-1427.
- Pang Y., Chen K., Wang X., Xu J., Ali J. & Li Z. (2017). Recurrent selection breeding by dominant male sterility for multiple abiotic stresses tolerant rice cultivars. *Euphytica*, 213(268) : 1-13.
- Parizeau M. H. (1997). La biodiversité (livre). *De Boeck et Larcier*, Département Boeck et Larcier, Université Paris Bruxelles (Belgique), 121 p.
- Pasteur N, Pasteur G, Bonhomme F, Catalan J & Britton-Davidian J (1987). Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines, Techniques et documentation. Lavoisier edn, Paris (France), p 75.
- Pespeni M.H., Oliver T.A., Manier M.K. & Palumbi S.R. (2010). Restriction Site Tiling Analysis: accurate discovery and quantitative genotyping of genome-wide polymorphisms using nucleotide arrays. *Genome biology*, 11(4) : 1-14.
- Pfister C. (2018). Réponses des cellules de *Nicotiana tabacum* à des molécules microbiennes : événements de signalisation précoce, influence de la dynamique membranaire et flux de sucres. Thèse de Doctorat, Physiologie Végétale, Université De Bourgogne Franche-Comte, France, 247p.
- Piperno & Dolores R., (2011). Les origines de la culture et de la domestication des plantes dans les nouveaux tropiques du monde : modèles, processus et nouveaux développements. *Anthropologie actuelle*, 52(4) : 453-470
- PND – CI (2012). Matrice d'actions prioritaires. Document PND – CI : 2012-2015. Tome IV. P. 59 – 62.
- Prashanthi D.K., Damodar K. & Suchithkumar C. (2024). Evaluation of heterosis in the genotypes of maize (*Zea mays* L.). *AIP Conference Proceedings*, 2971: 1-8.
- Pratyusha S. & Usha R.P. (2016). Physiological effects of resveratrol and coumaric acid on two major groundnut pests and their egg parasitoid behavior. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 91(4): 230-245.
- Quagliata G., Abdirad S., Celletti S., Sestili F. & Astolfi S. (2023). Screening of *Triticum turgidum* genotypes for tolerance to drought stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 194: 271-280.

- Rafalski A. (2002). Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Current opinion in plant biology*, 5 (2): 94-100.
- Raman R. 2017. The impact of Genetically Modified (GM) crops in modern agriculture. *GM crops and food*. 8(4):195-208.
- Raza A., Charagh S., Abbas S., Hassan M.U., Saeed F., Haider S., Sharif R., Anand A., Corpas F.J., Jin W. & Varshney R.K. (2023). *Plant Biology*, 25: 379-395.
- Reyes-Val M. H., Santacruz-Varela A., Martinez O., Simpson J., Hayano-Kanashiro C. & Cortes-Romero C. (2013). Analysis and optimization of bulk DNA sampling with binary scoring for germplasm characterization. *Plos One*, 8(11): 1-8.
- Ristanovic D. (2001). Maïs in Raemaker, 1ère edition, Agriculture en Afrique tropicale, DGBCI, Bruxelles, Belgique 1634pp.
- Riviello-Flores M.L., Cadena-Iñiguez J., Ruiz-Posadas L.D.M., Arévalo-Galarza M.L., Castillo-Juárez I., Soto Hernández M. & Castillo-Martínez C. R. (2022). Use of Gamma Radiation for the Genetic Improvement of Underutilized Plant Varieties. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(9): 1-19.
- Robert F. & Pelletier J. (2018). Exploring the Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Translation. *Frontiers in Genetics*, 9: 1-11.
- Robet E.J., Konan B., Amoikon K.E. (2020). Comparative Study of Nutritional Value of Wheat, Maize, Sorghum, Millet, and Fonio: Some Cereals Commonly Consumed in Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*, 16(21) : 118-131.
- Rogo Y.U. Fambrini M. & Pugliesi C. (2023). Embryo Rescue in Plant Breeding. *Plants*, 12(3106) : 1-60.
- RONGEAD–Chigata (2014). Diagnostic de la filière maïs en Côte d'Ivoire. Rapport de suivi de la filière maïs en Côte d'Ivoire, 59 p.
- Rouanet G. (1984). Le technicien d'agriculture tropicale : *le maïs*, édition Maisonneuve et Larose, 15 rue Victor-Cousin F 75005 Paris (France), 142p.
- Rozas P., Kessi-Pérez E.I. & Martínez C. (2022). Genetically modified organisms: adapting regulatory frameworks for evolving genome editing technologies. *Biological Research*, 55(31): 1-14.

- Rutger J.N. (2009). FAO/IAEA International Symposium on Induced Plant Mutations in the Genomics Era. Proceedings. In: Shu, Q.Y. editor Induced Plant Mutations in the Genomics Era. Rome, Italie, 458 p.
- Sachdev S., Ansari S.A., Ansari M.I., Fujita M. & Hasanuzzaman M. (2021). Abiotic Stress and Reactive Oxygen Species: Generation, Signaling, and Defense Mechanisms. *Antioxidants*, 10: 1-36.
- Sah R.P., Chakraborty M., Prasad K., Pandit M., Tudu V.K., Chakravarty M.K., Narayan S.C., Rana M. & Moharana D. (2020). Impact of water deficit stress in maize: Phenology and yield components. *Scientific Reports*, 10(1): 1-15.
- Sahar S.J. (2020). Etude de l'homéostasie des sucres en réponse à une forte salinité chez *Arabidopsis thaliana* : impact sur l'anatomie des tissus vasculaires dans la hampe florale et rôle dans la tolérance. Thèse de Doctorat, Biologie végétale. Université Paris Saclay, Île-de-France, France, Université de Sousse, Tunisie, 191 p.
- Saibari I., Barrijal S., Mouhib M., Belkadi N. & Hamim A. (2023), Gamma irradiation induced genetic variability and its effects on the phenotypic and agronomic traits of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Frontiers in Genetics*, 14: 1-11.
- Salami H.A., Yacoubou A.M., Bello I.A., Yallou C., Adjanohoun A. & Lamine B.M. (2020). Caractérisation agro-morphologique des accessions de maïs cultivées au Bénin. Fiche technique. Bibliothèque Nationale (BN) du Bénin, 37 p.
- Salgotra R.K. & Chauhan B.S. (2023). Genetic Diversity, Conservation, and Utilization of Plant Genetic Resources. *Genes*, 14 : 1-20.
- Samba N., (2023). Collecte, caractérisation agro-morphologique et évaluation de l'aptitude à valoriser la fumure minérale des cultivars locaux de maïs. Mémoire de fin de cycle En vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Agriculture, Centre Agricole Polyvalent de Matourkou (Bobo-Dioulasso, Burkina Faso), 123p.
- Sandy B. (2023). Réponse d'*Arabidopsis thaliana* au *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) en condition de déficit hydrique : phénotypage à haut débit de la croissance, étude des stratégies écologiques des plantes, des traits viraux et de leurs relations. Thèse de Doctorat, Biologie végétale, Université Montpellier SupAgro, France, 256 p.
- Sangaré A., Guei R. G. & Silué D. (1984). Amélioration du riz pluvial par irradiation aux rayons gamma en Côte d'Ivoire. *Agronomie Tropicale*, 39(2) : 124-130.

- Sangaré A., Koffi E., Akamou F & Fall C. (2009). État des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture : Second rapport national. Rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture Ministère de l'Agriculture République de Côte d'Ivoire, 71p.
- Santoni S., Faivre-Rampant P., Prado E. & Prat D. (2000). Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers d'Agricultures*, 9 (4) : 311-327.
- Sarsu F. (2021). Contribution of induced mutation. *ACI Avances En Ciencias E Ingenierías*, 12(3) : 1-10.
- Schibler L.L., Vaiman D., Crihiu E.P. (2020). Origine du polymorphisme de l'ADN. *Productions Animales*, n° Hors Serie, (2000), pp.37-43.
- Schlenker W. & Lobell D.B. (2010). Robust negative impacts of climate change on African agriculture. *Environmental Research Letters*, 5: 1-8.
- SEMAE (2024). Les marqueurs moléculaires. <https://www.semaepedagogie.org/uploads/semae-amelioration-plantes-marqueurs-rflp-1140x802.png>. Consulté le 25/06/2024.
- SEMAE (2024). Origine et ses caractéristiques du maïs. <https://www.semaepedagogie.org/uploads/semae-mais-phases-developpement-1140x594.png>. Consulté le 25/06/2024.
- Semagn K., Bjørnstad Å. & Ndjiondjop M.N. (2007). Progress and prospects of marker assisted backcrossing as a tool in crop breeding programs. *African Journal of Biotechnology*, 525(25): 2588-2603.
- Shah I.A., Khan I., Mir S.A., Pukhta M.S., Dar Z.A. & Lone A. (2018), Genetic Diversity by Multivariate Analysis Using R Software. *International Journal of Pure & Applied Bioscience* 6(3): 81-190.
- Shahiba M., Jayalekshmy V.G., & Arun C. (2023). Traditional Plant Breeding Techniques - Exploring Crossbreeding and Selection Methods. in *Modern Approaches in Plant Breeding Enhancing Crop Genetics* Publisher: Elite Publishing House A-10/28, Sector - 18, Rohini, New Delhi (Inde), 1-14.
- Sharma A., Shahzad B., Kumar V., Kaur S.K., Singh G.P.S., Bali A.S., Handa N., Kapoor D., Bhardwaj R. & Zheng B. (2019). Phytohormones Regulate Accumulation of Osmolytes Under Abiotic Stress. *Biomolecules*, 9: 1-36.

- Sharma P., Singh S.P., Iqbal H.M.N., Parra-Saldivar R., Varjani S. & Tong Y.W. (2022). Genetic modifications associated with sustainability aspects for sustainable developments. *Bioengineered*, 13(4): 9509-9521.
- Shepherd T. et Griffiths DW. 2006. The effects of stress on plant cuticular waxes. *New Phytologist*, 171: 469–499.
- Siené L.A.C., Doumbouya M., Traore M.S., Conde M., N'guettia T.V.F. & Koné M. (2020). Effect of four types of fertilizers on the growth and productivity of two maize genotypes (*Zea mays* L.) in the event of late planting in Korhogo in North-Central Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(1): 55-68.
- Singh A. K., Sah R., Sisodia A. & Pal A.K. (2017). Effect of Gamma Irradiation on Growth, Flowering and Postharvest Characters in Tuberose Varieties. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(8): 1985-1991.
- Singh A., Singh A. & Mahama A.A. (2024). Breeding Methods. In: *Crop Improvement*. Iowa State University Digital Press, Ames, Iowa (États-Unis): 133-160.
- Singh P.K., Indoliya Y., Agrawal L., Awasthi S, Deeba F., Dwivedi S., Chakrabarty D., Shirke P.A., Pandey V., Nandita S., Dhankher O.P., Barik S.K. & Tripathi R.D. (2022). Genomic and proteomic responses to drought stress and biotechnological interventions for enhanced drought tolerance in plants. *Current Plant Biology*, 29: 1-13.
- Singh S.K., Singh R.M., Joshi A. & Dhari R. (2009). Induced, high-yielding mutants in wheat. *Annual Wheat Newsletter*, 55: 95-96.
- Singh. (2000). Biochemistry of phenolic compounds. (ed). Academic press. London-New York, 25p.
- Soewarto J. (2018). Caractérisation de la réponse au déficit hydrique du sol chez trois génotypes de maïs : photosynthèse, transpiration, dynamique de sortie des soies et avortement des grains. Mémoire de Master en Biologie végétale, Laboratoire d'Ecophysiologie des Plantes sous Stress Environnementaux (UMR LEPSE-INRA-Montpellier Supagro), France, 47 p.
- Soliman E.R.S., El-Shazly H.H., Börner A. & Badr A. (2021). Genetic diversity of a global collection of maize genetic resources in relation to their subspecies assignments, geographic origin, and drought tolerance. *Breeding science*, 71(3): 313-325.

- Soliman M. I., Gouda W. S., El-Hady E. A. A., & Gaber E. S. (2021). Genetic diversity analysis of maize inbred lines using ISSR markers. *Menoufia Journal of Plant Production*, 6(1), 89-100.
- Soro D., Ayolié K., Gohi-Bi Z.F., Yao Y.F., Konan-Kan K.H., Sidicky B., Téhua A.P & Yatty K.J. (2015). Impact of organic fertilization on maize (*Zea mays* L.) production in a ferrallitic soil of centre west Côte d'Ivoire. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 3 (6): 556-565.
- Spormann S., Nadais P., Sousa F., Pinto M., Martins M., Sousa B., Fidalgo F. & Soares C. (2023) Accumulation of Proline in Plants under Contaminated Soils-Are We on the Same Page? *Antioxidants*, 12(666): 1-26.
- Stavridou E., Lagiotis G., Kalaitzidou P., Grigoriadis I., Bosmali I., Tsaliki E., Tsiotsiou S., Kalivas A., Ganopoulos I., & Madesis P. (2021). Characterization of the Genetic Diversity Present in a Diverse Sesame Landrace Collection Based on Phenotypic Traits and EST-SSR Markers Coupled with an HRM Analysis. *Plants (Basel, Switzerland)*, 10(4): 1-15.
- Sukumaran A., Khanduri V. & Sharma C. (2020). Pollinator-mediated self-pollination and reproductive assurance in an isolated tree of *Magnolia grandiflora* L. *Ecological Processes*. 9(1): 1-9.
- Szabados L. & Savoure A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15 (2): 89-97.
- Taba S. (2005). Latin American Maize Germplasm Conservation: Regeneration, In situ Conservation, Core Subsets, and Prebreeding; Proceedings of a Workshop held at CIMMYT, April 7-10, 2003. Mexico (Mexique), 78 p.
- Tabti D. (2018). Induction de la variabilité génétique par radio-mutagenèse (rayons gamma) chez la lentille (*Lens culinaris* M.) et sélection de mutants en M2 à intérêt agronomique. Thèse de Doctorat, Sciences Agronomiques, École Nationale Supérieure Agronomique – El Harrach- Alger, Algérie, 110 p.
- Tagu D. (1999). Principes des techniques de biologie moléculaire. INRA Editions, France, 131 p.
- Tardieu F. (1996). Drought perception by plants. Do cells of droughted plants experience water stress. *Plant growth regulation*, 20: 93-104.

- Tardieu F., Cruiziat P., Durand J.L., Triboï E., Zivy M., (2006). Perception de la sécheresse par la plante. Conséquences sur la productivité et sur la qualité des produits récoltés, *sécheresse et agriculture*, 4 : 49-67.
- Tchaker F.Z. (2018). Étude de l'efficacité globale des bio-pesticides et de pesticides de synthèse sur les ravageurs des essences forestières et des arbres fruitiers. Thèse de Doctorat, Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1, Algérie, 248p.
- Temesgen B. & Temesgen T. (2024). Genetic Variability and Its Benefits in Crop Improvement: A review. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 13(1): 128-136.
- Thenuja M., Sutharsan S. & Rifnas L.M. (2024). Effects of Different Levels of Gamma Radiation on Growth and Yield Characteristics of Groundnut. *Asian Journal of Research in Agriculture and Forestry*, 10(1):1-10.
- Thierry T.S. (2020). Régulation des transferts d'eau dans la plante et conséquences sur la croissance en déficit hydrique. Mémoire de Master, Biologie végétale, Université Montpellier 2 (Sciences et Techniques), France, 67 p.
- Timité N., Kouakou A.T.M., Bamba I., Barima Y.S.S. & Bogaert J. (2022). Climate Variability in the Sudanian Zone of Côte d'Ivoire: Weather Observations, Perceptions, and Adaptation Strategies of Farmers. *Sustainability*, 14: 1-20.
- Torrejón F., Bizama F., Araneda A., Aguayo M., Bertrand S. & Urrutia Roberto. (2013). Descifrando la historia ambiental de los archipiélagos de Aysén, Chili : El influjo colonial y la explotación económica-mercantil republicana (siglos XVI-XIX) [Déchiffrer l'histoire 51 environnementale des archipels d'Aysén, Chili : influence coloniale et exploitation commerciale sous républicain Epoque (XVI-XIX siècles)]. *Magallania*, 41(1) : 29-52.
- Toudou D.A.K., Atta S., Inoussa M.M. & Bakasso Y. (2017). Mécanisme de tolérance à la sécheresse du niébé pendant la phase végétative. *Journal of Applied Biosciences*, 117 : 11737-11743.
- Triboulot M.B. (2018). Effets du stress osmotique et de la carence en potassium sur la croissance racinaire du pin maritime : étude biomécanique du grandissement cellulaire. Thèse de Doctorat, Biologie végétale, Université Henri Poincaré - Nancy 1, France, 144p.
- Trindade R.S. (2022). The use of doubled haploid technology for lines development in maize breeding. *Brazilian Journal of Maize and Sorghum*, 21 :1-18.

- Trukhachev V.I., Seregina I.I., Belopukhov S. L., Dmitrevskaya I.I., Fomina T.I, Zharkikh O.A., & Akhmetzhanov D.M. (2022). The effect of stressful ecological conditions on chlorophyll content in the leaves of spring wheat plants. *Earth and Environmental Science*, 981: 1- 4.
- Tsao R. (2010). Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2 (12) :1231-46.
- Tsatsakis A. M., Nawaz M. A., Kouretas D., Balias G., Savolainen K., Tutelyan V.A. & Chung G. (2017). Environmental impacts of genetically modified plants: a review. *Environmental research*, 156 : 818-833.
- Turner M. (2010). Les semences. Éditions Quæ, CTA, *Presses agronomiques*, Gembloux (Belgique), 227 p.
- Ulukapi K. & Ozmen S.F. (2018). Study of the effect of irradiation (^{60}Co) on M1 plants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars and determined of proper doses for mutation breeding. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 11 : 157-161.
- Useni S.Y., Chukiyabo K.M., Tshomb K.J., Muyambo M.E., Kapalanga K.P., Ntumba N.F., Kasangij K.P., Kyungu K.A., Baboy L.L., Nyembo K.L. & Mpundu M.M. (2013), Utilisation des déchets humains recyclés pour l'augmentation de la production du maïs (*Zea mays* L.) sur un ferralsol du sud-est de la République Démocratique du Congo. *Journal of Applied Biosciences*, 66 : 5070-5081.
- Usha R.P. & Jyothsna Y. (2010). Changements biochimiques et enzymatiques dans les plants de riz en tant que mécanisme de défense. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32 : 695- 701.
- Verbraeken L., Wuyts N., Mertens S., Cannoot B., Maleux K., Demuynck K., Block J., Merchie J., Dhondt S., Bonaventure G., Crafts-Brandner S., Vogel J., Bruce W., Maere S. & Nelissen H. (2021). Drought affects the rate and duration of organ growth but not inter organ growth coordination. *Plant physiology*. 186 (2): 1336-1353.
- Vijay C., Willem M., Albrecht E. M. & Prasanna M.B. (2019). Doubled haploid technology for line development in maize: technical advances and prospects. *Theoretical and Applied Genetics*, 132 :3227-3243.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. & Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 23 (21): 4407-4414.

- Wang H., Zhang W., Yang G., Lei L., Han S., Xu W., Chen R., Zhang C. & Yang H. (2023). Maize Ear Height and Ear–Plant Height Ratio Estimation with LiDAR Data and Vertical Leaf Area Profile. *Remote Sensing*, 15(4): 1-20.
- Wang X., Ma R., Cui D., Cao Q., Shan Z. & Jiao Z. (2017). Physio-Biochemical and Molecular Mechanism Underlying the Enhanced Heavy Metal Tolerance in Highland Barley Seedlings Pre-Treated with Low-Dose Gamma Irradiation. *Scientific Reports*, 7(14): 233 p.
- Wang Z., Zou Y., Li X., Zhang Q., Chen L., Wu H., Su D., Chen Y., Guo J., Luo D., Long Y., Zhong Y. & Liu Y.G. (2021). Cytoplasmic Male Sterility of Rice with Boro II Cytoplasm Is Caused by a Cytotoxic Peptide and Is Restored by Two Related PPR Motif Genes via Distinct Modes of mRNA Silencing. *The Plant Cell*, 18(3): 676–687.
- Warman C., Panda K., Vejlupkova Z., Hokin S. Unger-Wallace E, Cole RA, Antony M.C., Duo J., Erik V., Matthew M.S.E., Keith R.S. & John E.F. (2020). High expression in maize pollen correlates with genetic contributions to pollen fitness as well as with coordinated transcription from neighboring transposable elements. *PLoS Genetics*, 16(4): 1-32.
- Westgeest A.J., Dauzat M., Simonneau T. & Pantin F. (2023). Leaf starch metabolism sets the phase of stomatal rhythm. *The Plant cell*, 35(9): 3444-3469.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J. & Rafalski J.A. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18: 6531-6535.
- Wu W.H., Qu J.Z., Blennow A., Herburger K., Hebelstrup K.H. & Guo K. (2022). Les effets des traitements contre la sécheresse sur la biosynthèse et la structure des amidons de maïs avec différentes teneurs en amylose, *Glucides. Polyme.* 297: 44-65.
- Xin Z. (2023). Mutagenesis in the Age of Next-Generation-Sequencing and Genome Editing. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(19): 2-3.
- Yadav A., Singh B. & Singh S.D. (2019). Impact of gamma irradiation on growth, yield and physiological attributes of maize. *Indian Journal of Experimental Biology*, 57: 116-122.
- Yan G., Liu H., Wang H., Lu Z., Wang Y., Mullan D., Hamblin J. & Liu C. (2017). Accelerated Generation of Selfed Pure Line Plants for Gene Identification and Crop Breeding. *Frontiers in Plant Science*, 8:1-14.

- Yang X., Lu M., Wang Y., Wang Y., Liu Z. & Chen S. (2021). Response Mechanism of Plants to Drought Stress. *Horticulturae*, 7(3): 1-36.
- Yang X., Zhao S., Liu B., Gao Y., Hu C., Li W., Yang Y., Li G., Wang L., Yang X., Yuan H., Liu J., Liu D., Shen X., Wyckhuys K.A.G., Lu Y. & Wu K. (2023). Bt maize can provide non-chemical pest control and enhance food safety in China. *Plant Biotechnology Journal*, 21: 391-404.
- Yao A.B., Anoh K.A, Zilé A.K., Kouakou L.K., Kouakou B.D. & Kouassi E.Y. (2020). Impact de la variation des paramètres climatiques sur la production du riz pluvial dans la région du Haut-Sassandra (Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 31(3): 529-541.
- Yasmin K. & Arulbalachandran D. (2022). Gamma irradiation effects on crop plants. *Research Journal of Biotechnology*, 17 (8): 126-135.
- Yassitepe J.E.C.T., Da Silva V.C.H., Hernandez-Lopes J., Dante R.A., Gerhardt I.R., Fernandes F.R., Silva P.A., Vieira L.R., Bonatti V. & Arruda P. (2021). Maize Transformation: From Plant Material to the Release of Genetically Modified and Edited Varieties. *Frontiers in Plant Science*, 12: 1-17.
- Yasui Y. (2020). History of the progressive development of genetic marker systems for common buckwheat. *Breeding science*, 70(1): 13-18.
- Ye Y., Zhang J., Ning G. & Bao M. (2008). A comparative analysis of the genetic diversity between inbred lines of *Zinnia elegans* using morphological traits and RAPD and ISSR markers, *Scientia Horticulturae*, 118: 1-7.
- Yılmaz-Düzyaman H., De La Rosa R. & León L. (2022). Seedling Selection in Olive Breeding Progenies. *Plants*, 11: 1-12.
- Yin T., Zhang X., Huang M., Wang M., Zhuge Q., Tu S. & Wu R. (2002). Molecular linkage maps of the *Populus* genome. *Genome*, 45: 541-55.
- Yusuff O., Mohd Y.R., Norhani A., Ghazali H., Asfaliza R., Harun A.R., Gous M. & Magaji U. (2016). Principle and application of plant mutagenesis in crop improvement. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30(1): 1-16.
- Zafar A.S., Aslam M., Albaqami M., Ashraf A., Hassan A., Iqbal J., Maqbool A., Naeem M., Al-Yahyai R., & Tan Kee Z.A. (2022). Gamma rays induced genetic variability in tomato

- (*Solanum lycopersicum* L.) germplasm. *Saudi journal of biological sciences*, 29(5): 3300–3307.
- Zagoskina N.V., Zubova M.Y., Nechaeva T.L., Kazantseva V.V., Goncharuk E.A., Katanskaya V.M., Baranova E.N. & Aksenova M.A. (2023). Polyphenols in Plants: Structure, Biosynthesis, Abiotic Stress Regulation, and Practical Applications (Review). *International journal of molecular sciences*, 24(18): 1-25.
- Zakir M. (2018). Mutation Breeding and its Application in Crop Improvement under Current Environmental Situations for Biotic and Abiotic Stresses, *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences (IJRSAS)*, 4(4): 1-10.
- Zanzibar M. & Sudrajat D. (2016). Effect of gamma irradiation on seed germination, storage, and seedling growth of *Magnolia champaca* L. *Indonesian Journal of Forestry Research*, 3: 95-106.
- Zemach S., Wassu M., Dagne W. & Amsal T. (2023). Performances of three-way cross hybrids over their respective single crosses and related heterosis of maize (*Zea mays* L.) hybrids evaluated in Ethiopia. *Heliyon*, 9: 1-12.
- Zhang P., Gu S., Wang Y., Yang R., Yan Y., Zhang S, Sheng D., Cui T., Huang S. & Wang P. (2021). Morphological and mechanical variables associated with lodging in maize (*Zea mays* L.). *Elsevier*, 269(15): 258-268.
- Zhao Y., Zhang S., Lv Y., Ning F., Cao Y., Liao S., Wang P. & Huang S. (2022), Optimizing ear-plant height ratio to improve kernel number and lodging resistance in maize (*Zea mays* L.). *Field Crops Research*, 276: 1-13.
- Zhou Y., Dahier J.M., Underhill S.J.R & Wills R.B.H. (2003). Enzymes associated with blackheart development in pineapple fruit. *Food Chemistry*, 80: 565-572.
- Zietkiewicz E., Rafalski A. & Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by simple-sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20 : 176-183.
- Zoma W.O. (2010). Amélioration de la variété Espoir de maïs en vue de l'intensification de sa culture. Mémoire de cycle ingénieur. Option : Agronomie, Université Polytechnique (BoboDioulasso, Burkina Faso), 51 p.

PUBLICATION SCIENTIFIQUE

Phenotypic Characterization and Multivariate Analysis of Fifteen Maize Lines developed by Induced Mutation in Daloa (Côte d'Ivoire)

Kouamé Léonard KOUADIO^{1*} N'guessan Olivier KONAN¹ Akessé Blaise KOUADIO¹ Bi Tah Paternie IRIE¹ Lohona Chigata SORO¹ Koutoua AYOLIE¹ Kouadio Justin YATTY¹

1. Laboratory of Crop Improvement, Agroforestry Unit, Jean Lorougnon Guédé University, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

* E-mail of the corresponding author: leokdio28@gmail.com

This research was financially supported by the International Atomic Energy Agency (IAEA).

Abstract

In Côte d'Ivoire, maize is an important staple food for a large part of the population. However, its culture faces many constraints related to soil degradation, climate change and genetic degeneration of cultivated varieties. In order to create new varieties adapted to these constraints, mutant maize Lines have been developed using the gamma radiation technique. The present study aims to phenotyping 15 mutant Lines from the sixth generation of self-pollination, in order to characterize them and to give information on their genetic diversity. For this, an experiment in a randomized complete block design with three replications was conducted. Thirteen traits were evaluated and they showed wide variation not only between the mutant Lines but also between them and the non-irradiated control. Multivariate analysis structured this variability into five distinct groups with specific traits. The interest of the revealed traits and the future use of these mutant Lines are discussed.

Keywords: maize, gamma radiation, induce mutation, phenotypic characterization

DOI: 10.7176/JBAH/13-18-05

Publication date: December 31st 2023

1. Introduction

Ranked third after wheat and rice, maize (*Zea mays* L.) is an important crop worldwide (FAO, 2022). In Côte d'Ivoire, it is the major staple diet of rural populations, mainly in the northern savannah region. In this region, it is the most energetic cereal due to its nutritional value and it has important economic stakes (Charcosset & Gallais, 2009). Indeed, it plays a significant role in reducing poverty and improving the food security status for poor families. However, in this region where agriculture production is largely rain-fed, the effects of current changes in climatic conditions constitute a huge limiting factor in maize production. In addition, it is projected that by 2050, global warming trends may render 40 % of the current maize growing areas in Africa unsuitable for varieties available today (Schlenker & Lobell, 2010; Neat, 2013). Hence, it becomes urgent to guide maize breeding towards new high-performance varieties adapted to strong environmental constraints. It is in this context that the present study aims at developing new elite maize varieties adapted to the agro climatic conditions of northern savannah region of Côte d'Ivoire, using the gamma radiation induced mutation technique. The action of these rays induces modifications of the genetic material (DNA) of a living organism such as a crop, thus increasing its variability and generating genotypes capable of adapting to the various constraints linked to their culture (Prouillac, 2006; Katiyar *et al.*, 2022).

Thus, 15 Lines of maize have been obtained after six generation of self-pollination of a maize genotype obtained by gamma irradiation of an appreciated variety in the north of Côte d'Ivoire. Phenotyping of these new maize Lines is highly recommended as the first step of the improvement program, prior to more in depth studies (Amiteye *et al.* 2019; Temam *et al.* 2020). Hence, the specific objective of the present study was to characterize phenotypically these 15 maize lines and to assess their genetic diversity, in order to generate information that could potentially help breeders to improve the crop.

2. Materials and Methods

2.1 Experimental Site

The study was carried out at the experimental farm of the Crop Improvement Laboratory of Jean Lorougnon

Guédé University (UJLoG) located in the town of Daloa (Center-West of Côte d'Ivoire, 130 km from the capital Yamoussoukro). The area was under humid tropical conditions with 1317 mm of rainfall per year. The vegetation, which used to be dense forest, has now disappeared in favor of various cash crops (Sangaré *et al.*, 2009). The experiment site was located 6 ° 90 N latitude and 6 ° 37 W with an altitude of 238 m.a.s.l. (above sea level). The soil of the plot was sandy loam texture with good fertility, properly leveled and well drained. The mean temperature and relative humidity during the experiment period ranged from 25 to 35 ° C and 69 to 83 %, respectively.

2.2 Plant Material

The plant material used for this study consisted of 15 lines of maize coming from sixth generation of self-pollination of a maize genotype obtained by gamma irradiation of the EV8728 variety at doses of 200 and 300 grays in Seibersdorf, Austria. The non-irradiated EV8728 variety was used as a control.

2.3 Experimental Design

The experiment was established using a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The spacing between adjacent replications was 2 m. Three seeds per hill were sown at a depth of 3 cm and thinned to two plants per hill after two weeks. Each Line was raised in a single-row plot with a row-to-row spacing of 80 cm and plant-to-plant spacing of 40 cm. A plant population of twenty-four plants per row, plot and Line was maintained. Thus, each Line was represented by 72 plants, i.e. 1080 plants for the overall 15 Lines on the experimental field.

2.4 Field Managements

Standard agronomic and management practices were adopted to raise a healthy crop. Daily watering using a Drip Irrigation System was applied uniformly to all plots. Manual weeding by hoeing and handpicking (Figure 1) were carried out when necessary to avoid any competition between the crop and the weeds, and thus allow better crop development.



Figure 1. Experimental Field of the Studied Maize Showing Manual Weeding by Hoeing and Handpicking, and Drip Irrigation System.

2.5 Data Collection

Data were collected on 15 plants of each Line in each replication. Visual observations and measurements were done for this collection. The following traits were evaluated: Days to emergence (DE), emergence rate (ER), plant height (PH), ear height (EH), stem diameter at base (SDB), days to anthesis (DA), days to silking (DS), anthesis-silking interval (ASI), ear length (EL), ear diameter (ED), ear weight (EW), 100 grains weight (GW100), number of rows per ear (NRE), number of grains per row (NGR), number of grains per ear (NSE, NSE = NRE×NGR).

2.6 Statistical Analysis of Data

Microsoft Excel Software (2016 edition) was used to compile the data and the SPSS v22.0 and R v3.6.3 softwares for statistical analyses.

With the SPSS software, the means and the standard errors were calculated and the data were subjected to an Analysis of Variance (ANOVA) to determine the presence of statistically significant differences among cultivars for the traits measured. A p-value of 0.05 or less was considered statistically significant. The Student-Newman-Keuls post-hoc test was used to separate significantly different means.

With the R software, the variables were subjected to two methods of multivariate analyses: Principal Component Analysis (PCA) and Cluster Analysis (CA). PCA was done to transform the original variables into a limited number of uncorrelated new variables and to allow the visualization of differences among the Lines, the identification of groups, and the identification of relationships among Lines and variables. The Eigen Values and Eigen Vectors were computed, which represent the variance and the loadings of the corresponding principal components (PCs). A biplot analysis was carried out based on the two most important PCs to visualize the pattern of total diversity within the germplasm studied. The degree of correlation between the traits and the percentage contribution of each trait to the total diversity were determined. CA was used to group the Lines into various clusters according to genetic distance. The clustering was performed using the genetic distances computed from traits measured. The distance matrix was used to construct a dendrogram based on Ward's aggregation method. The genetic relationships among the Lines and between and within the clusters were determined and analyzed.

3. Results

3.1 Variation in Crop Phenology (Emergence and Flowering)

For the maize Lines studied, the mean values of days to seedling emergence, emergence rate and days to flowering, are recorded in Table 1. There were significant differences in the mean number of days taken by seedlings of Lines to emerge. The mean values ranged from 4.33 to 6.17 days. The Line L5 and the control (T0) took the shortest time to emerge (4.33 days after sowing) while lines L1 and L13 recorded the longest time (6.17 days). The mean values of emergence rates showed significant differences too. The values were ranged from 43.98 % to 93.05 %. The Lines with the lowest rates were L7 and L13 (43.98 and 48.61 % respectively), while Line L4 with 97.22 % exhibited the highest emergence rate. The emergence rate of the control was 93.05 %. The mean values of days to flowering (days to anthesis and days to silking) revealed significant differences. The T0 control showed the shortest time to flowering. Indeed, all the Lines recorded average values significantly higher than those of the T0 control regarding days to anthesis and days to silking. The anthesis-silking intervals varied between 0 and 3.78 days. Seven Lines (L1, L3, L5, L6, L7, L14 and L15) and the control T0 had anthesis-silking intervals inferior to 1 day.

3.2 Variation in Growth and Production Parameters

Table 2 shows the distribution of the mean values of growth and production parameters. Except stem diameter, the values of each parameter studied showed highly significant differences. Concerning plant height, the shortest plants were recorded in Line L2 with an average height of 158.46 cm. Line L7 had tallest plants with 206.33 cm height on average. The mean height of the plants of the T0 control was 200.5 cm.

For the ear height, the control plants gave the highest ear heights (108.43 cm on average). Line L2 presented the shortest ear heights (76.43 cm on average).

The longest ears were observed in the control T01 with an average length of 15.24 cm; while the shortest ears were obtained in Line L3 with a length of 8.41 cm. All other lines presented ears with a length intermediate to these two values. For ear diameters, the control had the largest ears (45.66 mm); followed by Lines L6, L12 and L2 with 42.61, 41.93 and 40.46 mm respectively. The Line L9 had the smallest ear diameters (31.66 mm on average). Like the ear diameters, the control had the highest mass (128.18 g) before Line L12 (100.13 g). The least heavy ears were produced by Line L15 (31.11 g).

The number of grains per ear also contributed to discriminate studied Lines. The control plants had the most grains per ear (487.04 grains on average), followed by Lines L5 and L12 (424.59 and 424.3 grains respectively). With a mean of 141.13 grains, Line L15 exhibited the lowest number of grains per ear.

Furthermore, the heaviest grains were found in Lines L11, L15 and the Control with means of 24.32, 23.65 and 24.16 g for 100 grains weight respectively. Lines L5 and L9 had the least heavy grains (15.44 and 14.35 g 100 grains weight respectively).

Table 1. Mean Values and Standard Errors of the Phenological Traits of the 15 Maize Lines

Lines	DE (days)	ER (%)	DS (days)	DA (days)	ASI (days)
L1	6.17±0.9 ^d	60.65±8.3 ^{ab}	58±1.8 ^e	58.5±1.5 ^{de}	0.56±1.7 ^a
L2	5.33±0.5 ^{bc}	67.13±14.4 ^b	55.91±1.1 ^c	58.8±1.2 ^e	2.95±1.6 ^e
L3	5.5±0.8 ^c	76.39±9.4 ^c	60.48±2.8 ^h	60.4±2.5 ^h	0±0.9 ^a
L4	4.67±0.5 ^{ab}	97.22±3.5 ^f	53.03±1.5 ^{ab}	55.9±0.8 ^{bc}	2.93±1.3 ^e
L5	4.33±0.8 ^a	89.35±11.5 ^{de}	56.53±1.2 ^d	56.8±1.4 ^{cd}	0.27±1.2 ^a
L6	5.17±0.4 ^{bc}	87.5±7.1 ^{de}	54.83±1.4 ^{bc}	55.5±1.1 ^b	0.7±1.2 ^a
L7	5.83±0.4 ^{cd}	43.98±9.5 ^a	58.69±1.4 ^f	59.6±1.1 ^f	0.96±0.8 ^a
L8	5.17±0.4 ^{bc}	76.39±9.0 ^c	55.9±1.0 ^c	58±0.6 ^d	2.17±0.7 ^b
L9	5±0.0 ^b	77.78±11.6 ^{cd}	56.62±1.5 ^d	57.7±1.1 ^d	1.13±1.2 ^{ab}
L10	5.17±0.4 ^{bc}	91.67±5.5 ^e	56.33±0.9 ^d	58.9±1.2 ^e	2.6±1.3 ^e
L11	5.33±0.8 ^{bc}	88.43±9.1 ^d	55.77±1.6 ^c	58.4±1.1 ^{de}	2.7±1.2 ^e
L12	5.33±0.5 ^{bc}	74.07±8.5 ^{bc}	54.2±2.0 ^b	55.3±1.3 ^{ab}	1.1±1.7 ^{ab}
L13	6.17±0.4 ^d	48.61±6.7 ^a	58.81±1.1 ^f	62.5±1.7 ⁱ	3.78±1.8 ^d
L14	5.33±0.5 ^{bc}	74.07±9.4 ^{bc}	56.4±1.3 ^d	56.5±1.1 ^c	0.13±0.5 ^a
L15	5±0.6 ^b	81.02±13.7 ^d	59.21±1.4 ^g	59.9±4.1 ^g	0.71±4.7 ^a
T0	4.33±0.5 ^a	93.05±3.8 ^e	51.77±2 ^a	52.3±1.9 ^a	0.6±0.8 ^a
P-Value	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Means followed by the same letter are statistically identical at the 5 % threshold. P-Value: Approximate Probability of Tests, DE: Days to emergence, ER: Emergence rate, DA: days to anthesis, DS: days to silking, ASI: anthesis silking interval.

Table 2. Mean Values and Standard Errors of Growth and Production Parameters of the 15 Maize Lines Studied

Lines	SDB (mm)	EH (cm)	PH (cm)	EL (cm)	ED (mm)	EW (g)	NSE	GW100 (g)
L1	23.4±2.3 ^a	83.5±9.7 ^b	173.46±13.8 ^{bc}	11.96±2.9 ^{bc}	37.36±3.5 ^c	51.52±21.5 ^{cd}	262.22±99.8 ^d	20.97±3.3 ^b
L2	19.5±2.8 ^a	76.43±20.6 ^a	158.46±10.8 ^a	11.34±1.8 ^b	40.46±2.6 ^d	57.38±11.8 ^d	271.73±41.4 ^d	21.53±1.5 ^b
L3	19.8±4.5 ^a	80.83±18.7 ^{ab}	190.03±18.5 ^{de}	8.41±2.0 ^a	35.38±1.6 ^b	38.68±7.0 ^b	199.09±46.1 ^b	18.9±3.2 ^{ab}
L4	20.4±3.6 ^a	86.2±12.7 ^{bc}	181.93±15.4 ^d	10.5±2.1 ^b	35.48±2.6 ^b	47.16±14.0 ^{bc}	183.12±51.6 ^{ab}	24.57±3.0 ^e
L5	22.1±2.4 ^a	97.7±35.2 ^d	170.46±18.1 ^b	12.32±1.9 ^c	37.45±3.7 ^c	60.64±22.7 ^d	424.59±90.5 ^h	15.44±3.3 ^a
L6	21.1±3.5 ^a	99.1±14.4 ^e	196.24±12.3 ^f	12.32±2.5 ^c	42.61±3.2 ^d	80.13±28.8 ^g	293.48±86.3 ^e	24.69±2.9 ^e
L7	30.2±10.8 ^b	98.37±14.0 ^d	206.33±34.4 ^h	12.3±1.5 ^c	35.66±6.1 ^b	52.35±14.7 ^{cd}	297.92±54.2 ^e	19.04±2.4 ^{ab}
L8	21.4±3.7 ^a	89.93±9.8 ^c	179.1±13.0 ^c	12.34±1.4 ^c	36.37±2.0 ^c	62.47±14.2 ^d	329.14±57.9 ^g	17.99±2.8 ^{ab}
L9	18.4±2.1 ^a	94.37±8.4 ^{cd}	180.23±11.8 ^{cd}	10.94±2.3 ^b	31.66±3.1 ^a	36.16±14.0 ^{ab}	269.57±109.9 ^d	14.35±2.1 ^a
L10	21.1±2.2 ^a	100.87±11.7 ^c	199.66±13.6 ^g	13.99±1.3 ^c	38.17±2.8 ^c	68.51±12.6 ^f	313.68±39.2 ^f	21.12±3.0 ^b
L11	21.1±3.2 ^a	98.07±9.3 ^d	197.4±19.5 ^g	13.4±1.3 ^d	35.85±1.9 ^b	63.86±13.0 ^e	245.83±35.0 ^c	24.32±2.1 ^d
L12	22.7±1.8 ^a	93.13±12.6 ^{cd}	193.56±21.3 ^e	13.87±2.4 ^e	41.93±7.1 ^d	100.13±64.5 ^h	424.3±75.4 ^h	22.91±2.3 ^c
L13	30.3±12 ^b	91.2±12.1 ^c	188.23±33.0 ^{de}	11.31±0.6 ^b	37.03±2.6 ^c	48.41±9.9 ^c	211.92±41.7 ^b	22.38±1.7 ^{bc}
L14	20.7±2.8 ^a	80.23±8.2 ^{ab}	166.2±7.8 ^{ab}	10.98±4.3 ^b	36.44±2.8 ^c	41.86±10.7 ^b	231±50.3 ^{bc}	19.05±2.6 ^{ab}
L15	25.2±32.4 ^{ab}	97.63±10.8 ^d	194.63±15.9 ^{ef}	10.25±1.5 ^{ab}	33.2±3.4 ^{ab}	31.11±8.1 ^a	141.13±32.7 ^a	23.65±2.0 ^d
T01	24±2.6 ^{ab}	108.43±17.5 ^f	200.5±30.7 ^g	15.24±2.0 ^f	45.66±3.6 ^e	128.18±30.2 ⁱ	487.04±92.8 ⁱ	24.16±2.8 ^d
P-Value	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

Means followed by same letter are significantly identical at the 5 % threshold. P-Value: Approximate Probability of Tests. EL: ear length. ED: ear diameter. EW: ear weight. GW100: 100 grains weight. NSE: number of seeds per ear. PH: plant height. EH: ear height. SDB: stem diameter at base.

3.3 Correlation between the Studied Traits

Table 3 presents the correlation matrix between the different traits studied. The analysis of this matrix indicates a significant correlation ($\geq \pm 0.50$) between some pairs of traits. Thus, strong positive correlations were found between ear size (length and diameter) and ear weight and number of ear grains; between Plant height and ear height; and between days to anthesis and days to silking. On the other hand, strong negative correlations were observed between ear weight and days to flowering (anthesis and silking) and between emergence rate and days to emergence.

Table 3. Correlation Matrix between Studied Traits

	DE	ER	SDB	EH	PH	EL	ED	EW	NSE	GW100	DA	DS	ASI
DE	-												
ER	-0.82	-											
SDB	0.441	-0.65	-										
EH	-0.42	0.324	0.319	-									
PH	0.021	0.065	0.441	0.74	-								
EL	-0.24	0.214	0.154	0.666	0.368	-							
ED	-0.21	0.184	0.035	0.269	0.139	0.653	-						
EW	-0.36	0.308	0.041	0.54	0.357	0.839	0.896	-					
NSE	-0.43	0.199	0.002	0.495	0.118	0.781	0.689	0.837	-				
GW100	0.037	0.217	0.186	0.186	0.406	0.27	0.478	0.399	-0.13	-			
DA	0.679	-0.6	0.365	-0.34	-0.03	-0.54	-0.61	-0.72	-0.65	-0.2	-		
DS	0.612	-0.59	0.321	-0.31	-0.02	-0.63	-0.62	-0.73	-0.57	-0.38	0.872	-	
ASI	0.203	-0.08	0.124	-0.08	-0.02	0.118	-0.05	-0.06	-0.23	0.321	0.352	-0.15	-

DE: Days to emergence. ER: emergence rate. EH: ear height. DA: days to anthesis. DS: days to silking. ASI: anthesis silking interval. EL: ear length. ED: ear diameter. EW: ear weight. GW: 100 grains weight. NSE: number of seeds per ear. PH: plant height. EH: ear height. SDB: stem diameter at base

3.4 Principal Component Analysis (PCA)

The principal component analysis (PCA) transformed the 13 raw set of data into 13 factors loadings or principal components, with the first principal component (PC1) contributing the most variability (43.38 %) and the last principal component (PC13) contributing the lowest variability (7.85×10^{-7} %). Eigen values are often used to determine how many principal components to retain. Usually, components with Eigen values less than 1 are excluded (Shah *et al.* 2018). The first four PC (PC1, PC2, PC3 and PC4) had Eigen values greater than 1 (Table 4), and showed therefore high significant variability compared to the rest of the PCs which had Eigen values less than 1. These latter PCs had not been considered, as they were not significantly influencing the variability among the maize Lines studied. The percentage of variation explained by the first four PCs, their Eigen value and the factor scores for the 13 traits studied are presented in Table 4. These four PCs cumulatively explained 86.589 % variation for the maize Lines studied. The first two PCs together explained 63.52 % of variation. This value is higher than the reference value of 45.15 %. PC1 (43.38 % variation) had a greater weightage on DE, RE, DA, DS, EH, EL, ED and EW; and PC2 (20.14 % variation) had a greater weightage on SDB and PH. The remaining variation (22.53 %) was contributed by the other two PCs (PC3 and PC4) with greater weightage on the rest of the traits. Thus, PC1 was mainly attributed to phenologic and production parameters and PC2 to growth parameters.

Biplot analysis was carried out based on the first two PCs. The traits and the maize Lines were shown on the biplots (Figure 2 and Figure 3A, respectively) to clearly visualize their associations and differences. The scatter plot of the maize Lines (Figure 3A) presented the diversity pattern of the Lines studied and classified them into five groups. The group 1 contained exclusively the Lines L1, L3 and L15. The group 2 comprised Lines L7 and L13. Lines L14, L9, L8, L5, L4 and L2 formed group 3. Group 4 contained Lines L12, L11, L10 and L6; and the latest group (5) contained exclusively the control T01.

Table 4. Principal Component Analysis of 13 Traits in the Maize Lines Studied Showing Eigen Vectors, Eigen Values, Total and Cumulative Percentage of Variance Explained by the First Four PC Axes

TRAITS	PC1	PC2	PC3	PC4
DE	-0,635	0,552	0,074	-0,37
ER	0,586	-0,57	0,24	0,47
SDB	-0,145	0,872	-0,176	-0,005
EH	0,629	0,415	-0,255	0,544
PH	0,31	0,655	-0,059	0,59
EL	0,816	0,366	-0,054	-0,133
ED	0,775	0,204	0,102	-0,445
EW	0,925	0,241	-0,018	-0,222
NSE	0,799	0,062	-0,438	-0,31
GW100	0,353	0,384	0,717	0,107
DA	-0,865	0,344	0,063	0,08
DS	-0,857	0,223	-0,317	0,124
ASI	-0,108	0,27	0,734	-0,077
Eigen value	5,64	2,618	1,526	1,403
Total variance (%)	43,382	20,137	11,74	10,793
Cumulative variance (%)	43,382	63,519	75,259	86,052

Bold values are the highest contribution for each trait to total variance in the respective axes. DE: Days to emergence. ER: emergence rate. EH: ear height. DA: days to anthesis. DS: days to silking. ASI: anthesis silking interval. EL: ear length. ED: ear diameter. EW: ear weight. GW: 100 grains weight. NSE: number of seeds per ear. PH: plant height. EH: ear height. SDB: stem diameter at base

3.5. Cluster Analysis (CA)

A hierarchical ascending classification of the studied Lines was performed. The dendrogram (Figure 3B) generated with Ward's aggregation method, at 50 % level of similarity, confirmed the grouping in five distinct groups as revealed by the PCA.

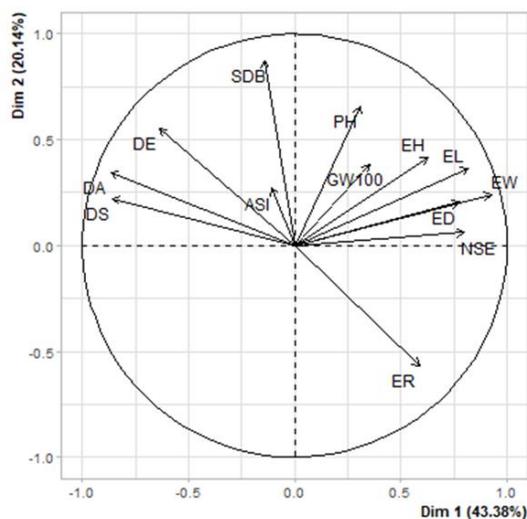


Figure 2. Plot of Components Weight of the 13 Traits of the Studied Maize

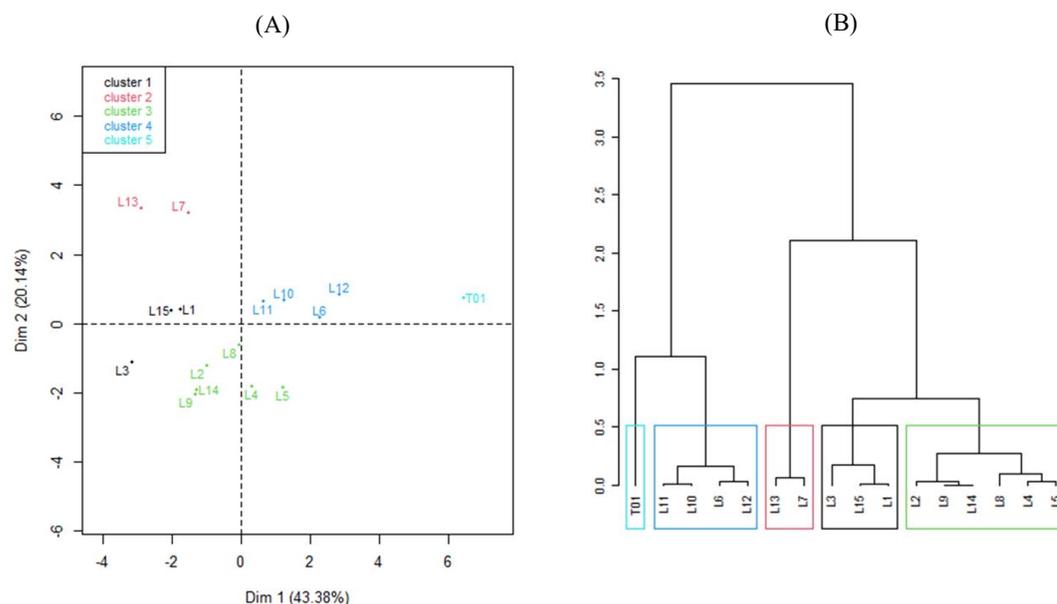


Figure 3. Principal Component (PCA) and Cluster Analysis (CA): A) Scatter Plot of the First and Second PC for the Maize Lines Studied, Showing Five Groups; B) CA Dendrogram Showing Five Clusters.

4. Discussion

Phenotypic characterization is the first essential step in genetic resources description (Kaur *et al.*, 2022; Sanchez *et al.*, 2023). It provides breeders with important information necessary for their breeding program (Jung *et al.*, 2021). The phenotyping of the 15 maize Lines used in the present study was done to characterize them and to give information on their genetic diversity. The traits evaluated showed wide variation not only between the maize Lines studied but also between these Lines and the control. First, these results indicate that the traits evaluated are suitable to discriminate the genotypes studied. According to Louette (1994), vegetative traits (plant height and ear insertion height), length of vegetative stage (days to flowering) and certain ear parameters, such as diameter, are the main criteria to identify maize varieties. Second, the significant differences observed could be explained by the effects of gamma radiation applied to the grains of the control variety which made it possible to obtain the Lines studied. Such exposure of grains to gamma radiation could have caused modifications to their genome, which could be the origin of the variability observed. Indeed, according to Feuk *et al* (2006) this practice leads to random modifications at several levels of the genome, which could allow obtaining several lines differing from each other at different levels.

Emergence parameters (days to emergence and emergence rate) are important criteria for assessing germination capacity of each Line. Successful germination alone does not guarantee successful emergence of a maize crop. Elongation of the mesocotyl must elevate the coleoptile to the soil surface before the inner true leaves emerge from the protective tissue of the coleoptiles (Nielsen, 1995). In our study, emergence varied between 4 and 6 days after planting. This is a narrower range than that reported by Nemergut *et al.* (2021), who evaluated in-field maize emergence in different soils and at different planting depths and reported emergence between 4 and 13 days after planting. Except for lines L7 and L13 which showed emergence rates of 43.98 and 48.61 % respectively, the other Lines recorded rates above 50 %. Overall, these results imply that the lines studied have a good germination capacity.

Flowering time (or vegetative stage length) is a complex trait that displays a large range of variability. More than 60 QTLs for flowering time with five to six major chromosomal clusters/regions have been detected in maize and each QTL contributes to a small part of the phenotypic variation (Durand, 2012). In the present study, the length of the vegetative stage was shorter for the control (51.77 DA and 52.3 days DS) than the studied Lines (53.03 - 60.48 DA and 55.3 - 62.5 DS). This result suggests that the mutations induced in the Lines by the gamma irradiation slightly lengthened their vegetative stage. In addition, the anthesis-silking interval was relatively small, less than 4 days. This indicates the synchronization of male and female flowering of these Lines.

Our results are in line with those of Mercer & Perales (2019), who reported that the time interval required between male and female flowering in maize is less than five days. Moreover, a strong positive correlation was found between these two parameters (male and female flowering). These results are consistent with those of Moussa *et al* (2018) who showed that duration of male and female sowing-flowering cycles are positively and significantly correlated.

Ear height and plant height are of great importance for the morphological characterization of maize variety. Both are important agronomic traits in maize that directly affect nutrient utilization efficiency and lodging resistance and ultimately relate to maize yield (Wang, 2023). Apart from Line L18, all studied Lines were shorter and had shorter ear insertion heights than the control. These results showed that gamma irradiation reduced the growth of the mutants. These results are in line with those of Singh *et al* (2009) who studied generation 1 to 3 mutants of wheat obtained by gamma irradiation, and found shorter mutants compared to the non-irradiated parent. This reduction can be beneficial and desirable breeding efforts as these mutants can be better adapted to high wind areas to limit lodging damage (Useni *et al*, 2012). Indeed, according to Zhao *et al.* (2022) growth reduction reduces the center of gravity, increases the mechanical strength of the basal stem and increases anchorage strength of brace roots in maize; which leads to increased resistance to lodging.

The heaviest, largest and longest ears were recorded in the control. These results indicate that irradiation had a deleterious effect on these traits. This is consistent with the results of Irfaq & Nawab (2001) who also observed a decrease in the number of grains in wheat under the effect of gamma radiation.

PCA grouped the 15 mutant Lines studied in five distinct groups. This result was confirmed by CA with the dendrogram that grouped the Lines under five major clusters. Clustering is a technique that can conveniently show the pattern of genetic relationships or proximity among the genotypes studied such that each group is homogeneous with respect to certain characteristics and each group should be different from other groups with respect to the same characteristics (Gangopadhyay *et al.* 2017). Thus, the Lines in Group 1 are characterized by short ears and relative late female flowering. Group 2 is characterized by high stem diameter and relative late seedling emergence and male flowering. Group 3 is characterized by short plants and relative light grains mass. Group 4 is characterized by longest ears. Group 5, is characterized by plants with earliest emergence and flowering, and highest values for the ear parameters (mass, diameter, number of grains and ear length). This structuring of the diversity showed for each groups, specific interesting traits. This offers the possibility of improving the crop by pyramiding the useful genes of each cluster in a new genotype. For this, the use of the best Mutant from each cluster in a hybridization program could generate the expectation of obtaining hybrids with a greater heterotrophic effect.

5. Conclusion

This study constitutes a first step in the characterization of 15 maize Lines developed by induced mutation using gamma radiation. Major differences were recorded within the germoplasm studied. The significant differences revealed between the studied Lines and the non-irradiated parent prove the occurrence of mutations in these Lines. Multivariate analysis structured the variability into five distinct groups. These groups already constitute interesting reservoirs of genes for the crop improvement. Nevertheless, the characterization work must continue. For this, these mutant Lines need to be tested in the unsuitable environmental and edaphic conditions of the northern savannah region of Côte d'Ivoire to assess their response to various abiotic stresses like heat, salinity and drought.

References

- Amiteye, S., Amitaaba, T., & Amoatey, H.M. (2019), "Morphological Characterization of Accessions of Okra (*Abelmoschus Spp L.*)", *International Journal of Pure & Applied Bioscience* 7(1), 1-13.
- Charcosset, A. & Gallais, A. (2009), "Emergence et développement du concept de variétés hybrides chez le maïs", *Le Sélectionneur Français*, UMR Génétique Végétale, INRA–Université de Paris-Sud-CNRS Agro Paris Tech Ferm du moulin 91190GIF/YVETTE, 60, 21-30.
- Durand, E., Bouchet, S., Bertin, P., Ressayre, A., Jamin, P., Charcosset, A., Dillmann, C. & Tenailon, M.I. (2012), "Flowering Time in Maize: Linkage and Epistasis at a Major Effect Locus", *Genetics*, 190, 1547–1562.
- FAOSTAT (2022), "Food and Agricultural Organization (FAO) STAT Database Records", Available online at <http://faostat.fao.org/>.

- Feuk, L., Carson, A.R. & Scherer, S.W. (2006), “Structural variation in the human genome”, *Nature Reviews Genetics*, **7**(2), 85-97.
- Gangopadhyay, K.K., Singh, A., Bag, M.K., Ranjan P., Prasad, T.V., Roy, A., & Dutta, M. (2017), “Diversity analysis and evaluation of wild *Abelmoschus* species for agro-morphological traits and major biotic stresses under the north western agro-climatic condition of India”, *Genetic Resources and Crop Evolution* **64** (4), 775–790.
- Irfaq, M. & Nawab, K. (2001), “Effect of Gamma Irradiation on Some Morphological Characteristics of Three Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars”, *Journal of Biological Sciences*, **1**(10): 935-937.
- Jung, S., Lee, T., Gasic, K., Campbe, T., Yul, J., Humann, J., Ru, S., Edge-Garza, D., Hough H., & Main, D. (2021), “The Breeding Information Management System (BIMS), an online resource for crop breeding”, *Database*, **2021**(0), 1–15.
- Katiyar, P., Pandey, N. & Keshavkant, S. (2022), “Gamma radiation A potential tool for abiotic stress mitigation and management of agroecosystem”, *Plant Stress* **5**, 1-11.
- Kaur, V., Aravind J., Manju, Jacob, S.R., Kumari J., Panwar, B.S., Pal, N., Rana JC., Pandey, A. & Kumar, A. (2022), “Phenotypic Characterization, Genetic Diversity Assessment in 6,778 Accessions of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Germplasm Conserved in National Genebank of India and Development of a Core Set”, *Frontiers in Plant Science*, **13**, 771920.
- Louette D. (1994), “Gestion traditionnelle de variétés de maïs dans la réserve de la biosphère Sierra Manantan (RBSM, états de Jalisco et Colima, Mexique) et conservation in situ des ressources génétiques de plantes cultivées”, *PhD Thesis*, École Nationale Supérieure Agronomique Montpellier (France).
- Mercer, K.L. & Perales, H. (2019) “Structure of local adaptation across the landscape: flowering time and fitness in Mexican maize (*Zea mays* L. subsp. mays) landraces”, *Genetic resources and crop evolution*, **66**, 27–45.
- Moussa, A.A., Salako, V.K., Charlemagne., Gbemavo, D.S.J., Zaman-Allah, M., Kakaï, R.G. & Bakasso, Y. (2018), “Performances agro-morphologiques des variétés locales et améliorées de maïs au sud-ouest du Niger”, *African Crop Science Journals*, **26**(2), 1021- 9730.
- Neate, P. (2013), “Climate-Smart Agriculture Success Stories from Farming Communities around the World”, CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS) and Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation (CTA), Wageningen, The Netherlands.
- Nemergut, K.T., Thomison, P. R., Carter, P.R. & Lindsey, A.J. (2021), “Planting depth affects corn emergence, growth and development, and yield”, *Agronomy journal*, **113** (4), 3351–3360.
- Nielsen, R.L. (1995), “Planting Speed Effects on Stand Establishment and Grain Yield of Corn”, *Journal of production agriculture*, **8** (3), 391-393.
- Prouillac, C. (2006), “Synthese et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphores contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro”, *PhD Thesis*, Université Paul Sabatier - Toulouse III (France).
- Sanchez, D., Sadoun, S. B., Mary-Huard, T., Allierc, A., Moreau, L., & Charcosseta, A. (2023), “Improving the use of plant genetic resources to sustain breeding programs’ efficiency”, *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, **120**(14), 1-9.
- Sangaré, A., Koffi, E., & Akamou, F. (2009), “État des ressources phylogénétiques pour l’alimentation et l’agriculture”, Second national report, Côte d’Ivoire.
- Schlenker, W. & Lobell, D.B. (2010), “Robust negative impacts of climate change on African Agriculture”, *Environmental Research Letters*, **5**, 1-8.
- Shah, I.A., Khan, I., Mir, S.A., Pukhta, M.S., Dar, Z.A., & Lone, A. (2018), “Genetic Diversity by Multivariate Analysis Using R Software”, *International Journal of Pure & Applied Bioscience* **6**(3), 81-190.
- Singh, R., Mohan, A., Kulwal, P., Kumar, V., Reyazul, R.M., Kumar, J., Prasad, M., Balyan, H.S. & Gupta, P.K. (2009), “Genome-wide QTL analysis for pre-harvest sprouting tolerance in bread wheat”, *Euphytica*, **168**(3), 319-329.
- Temam, N., Mohamed, W., & Aklilu, S. (2020), “Agro morphological Characterization and Evaluation of Okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench] Genotypes for Yield and Other Variability Components at Melkassa, Central Ethiopia”, *MOJ Ecology & Environmental Sciences* **5**(2), 80–87.

Useni, S.Y., Chukiyabo, K.M., Tshomb, K.J., Muyambo, M.E., Kapalanga, K.P., Ntumba, N.F., Kasangij, K.P., Kyungu, K.A., Baboy, L.L., Nyembo, K.L. & Mpundu, M.M. (2013), “Utilisation des déchets humains recyclés pour l’augmentation de la production du maïs (*Zea mays* L.) sur un ferralsol du sud-est de la République Démocratique du Congo”, *Journal of Applied Biosciences*, **66**, 5070-5081.

Wang, H., Zhang, W., Yang, G., Lei, L., Han, S., Xu, W., Chen, R., Zhang, C. & Yang, H. (2023), “Maize Ear Height and Ear–Plant Height Ratio Estimation with LiDAR Data and Vertical Leaf Area Profile”, *Remote Sens.*, **15** (4), 1-21.

Zhao, Y., Zhang S., Lv, Y., Ning, F., Cao, Y., Liao, S., Wang, P. & Huang, S. (2022), “Optimizing ear-plant height ratio to improve kernel number and lodging resistance in maize (*Zea mays* L.)”, *Field Crops Research*, **276**, 108376.

Zuma, M.K., Kolanisi, U. & Modi A.T. (2018), “The potential of integrating provitamin A-biofortified maize in smallholder farming systems to reduce malnourishment in South Africa”, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **15** (4), 1-12.

Résumé

Le maïs fait partie des céréales les plus cultivées en Côte d'Ivoire et occupe une place importante dans l'alimentation humaine et animale. Cependant, des problèmes liés au déficit hydrique, l'une des conséquences du changement climatique, affectent considérablement la production de cette céréale. Pour faire face à cette contrainte et améliorer de façon durable sa production, le présent travail a été initié. Il a pour objectif la création de lignées de maïs résistantes à la sécheresse par la mutation induite au rayonnement gamma. Ainsi, après irradiation de semences de la variété EV8728 aux doses 200 et 300 Gy, une sélection généalogique conduite pendant 5 générations de culture a permis d'isoler 264 lignées mutantes. Une sélection participative a par la suite permis d'en choisir 61 dont 37 ont servi à réaliser cette étude. Une caractérisation agro-morphologique des lignées choisies a mis en évidence une différence significative pour plusieurs caractères non seulement entre ces lignées mutantes mais aussi entre elles et le témoin non irradié. A cet égard, un notable gain a été observé en terme de précocité et de vigueur chez certaines lignées mutantes par rapport au témoin. L'évaluation du potentiel de résistance à la sécheresse de ces lignées a été réalisée en les soumettant à un test de déficit hydrique. Au cours de ce test, la performance agronomique des lignées mutantes, la densité et le degré d'ouverture de leurs stomates, ainsi que leur pouvoir de production de molécules impliquées dans les processus de limitation des pertes d'eau ont été examinés. L'analyse des données obtenues a permis de dégager deux groupes de lignées intéressantes. Le premier est constitué des lignées L22, L27 et L37 qui ont présenté des potentialités de résistance à la sécheresse largement supérieures aux témoins résistants T02 et T03. Le second groupe est composé des lignées L25, L26, L29, L30 et L33 identifiées comme possédant des caractères de résistance similaires aux témoins résistants. Une analyse par marqueurs moléculaire ISSR de ces lignées résistantes a révélé la présence de nombreuses bandes spécifiques chez chacune d'elles tant par rapport aux autres lignées que par rapport au témoin non irradié. Ces résultats confirment les différences significatives révélées par la caractérisation agro-morphologique et indiquent l'efficacité de l'irradiation au rayonnement gamma pour générer des mutations au niveau du génome du maïs.

Mots clés : Mutation induite, Irradiation gamma, Amélioration des plantes, Lignées de maïs, Résistance à la sécheresse, Marqueur moléculaire, ISSR.

Summary

Maize is one of the most widely grown cereals in Côte d'Ivoire and plays an important role in human and animal nutrition. However, problems linked to water shortage, one of the consequences of climate change, are having a considerable impact on maize production. In order to tackle this problem and improve production in a sustainable way, this project has been initiated. The aim is to create drought-resistant maize lines through mutation induced by gamma radiation. After irradiating seeds of the EV8728 variety with doses of 200 and 300 Gy, a pedigree selection carried out over 5 generations of cultivation resulted in the isolation of 264 mutant lines. Participatory selection then led to the selection of 61 mutant lines, 37 of which were used in this study. An agro-morphological characterization of the selected lines revealed a significant difference in several traits, not only between these mutant lines but also between them and the non-irradiated control. In this respect, a significant gain was observed in terms of earliness and vigour in certain mutant lines compared with the control. The drought resistance potential of these lines was assessed by subjecting them to a water deficit test. During this test, the agronomic performance of the mutant lines, the density and degree of opening of their stomata, and their capacity to produce molecules involved in the processes of limiting water loss were examined. Analysis of the data obtained revealed two groups of interesting lines. The first is made up of lines L22, L27 and L37, which showed potential for resistance to drought that was far superior to the resistant controls T02 and T03. The second group is made up of lines L25, L26, L29, L30 and L33, which were identified as having similar resistance traits to the resistant controls. An ISSR molecular marker analysis of these resistant lines revealed the presence of numerous specific bands in each of them, both in comparison with the other lines and with the non-irradiated control. These results confirm the significant differences revealed by the agro-morphological characterization and indicate the effectiveness of gamma irradiation in generating mutations in the maize genome.

Key words: Induced mutation, Gamma irradiation, Plant breeding, Maize lines, Drought resistance, Molecular marker, ISSR.