

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

N'DA¹Hugues Annicet*, N'CHO Achi Laurent, AKANVOU¹ Louise

Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) KM 17, Route de Dabou, 01 BP 1740 Abidjan 01 (Côte d'Ivoire).

Email de l'auteur correspondant : ndahuguesannicet@gmail.com

Submission 21st September 2023. Published online at <https://www.m.elewa.org/Journals/> on 30th November 2023. <https://doi.org/10.35759/JABs.191.6>

RÉSUMÉ

Objectif : évaluer la diversité génétique au niveau morphologique et moléculaire du maïs (*Zea mays* violet collecté au centre-nord de la Côte d'Ivoire, principal zone productrice et définir une stratégie pour la conservation de ce maïs local.

Méthodologie et résultats : 70 accessions de maïs violet évaluées sur la base de 18 caractères quantitatifs dans un dispositif alpha-lattice (10 X 7) en trois (03) répétitions. Les données agromorphologiques recueillies ont été soumises à des analyses descriptives et multivariées. L'analyse en composantes principales (ACP) explique 78,67% de la variabilité. L'analyse hiérarchique des clusters répartit les accessions de la collection en sept groupes à partir de cinq caractères. La diversité au niveau moléculaire a été mesurée en utilisant 17 marqueurs microsatellites. La diversité génétique totale (He) a été de 0,30, tandis que la diversité à l'intérieur des accessions est de 19 % (FST).

Conclusion et application des résultats: Ce travail constitue une première caractérisation des ressources génétiques locales des maïs violets, à l'aide de marqueurs morphologiques et microsatellites. La caractérisation agromorphologique et la caractérisation moléculaire à travers les marqueurs microsatellites a confirmé l'efficacité des deux méthodes pour caractériser les variétés de maïs violet mais la technique microsatellite permet une analyse beaucoup plus fine. Elle a permis d'acquérir une meilleure connaissance des relations génétiques existant entre les accessions de maïs violet. Bien que cette analyse mériterait sans doute d'être enrichie par l'apport d'autres marqueurs en plus grand nombre, elle a permis de révéler l'existence d'une diversité intra population. Les résultats combinés des données morphologiques et des données moléculaires permettront une première approche de génétique d'association. Etant donné que les maïs violet ont fait l'objet de très peu d'études en Côte d'Ivoire, les descripteurs identifiés pourraient constituer des critères de base de comparaison pour les investigations ultérieures.

Mots clés : *Zea mays*, moléculaire, morphologique, violet

Morphological and molecular diversity of local varieties of purple maize cultivated in north-central Côte d'Ivoire: implications for conservation

ABSTRACT

Objective: to assess the genetic 'diversity' at morphological and molecular level of purple maize (*Zea mays*) collected in north-central Côte d'Ivoire, the main production area, and to define a strategy for the conservation of this local maize.

Methodology and results: 70 purple maize accessions evaluated on the basis of 18 quantitative traits in an alpha-lattice design (10 X 7) with three (03) replications. The agro-morphological data collected were subjected to descriptive and multivariate analyses. Principal component analysis (PCA) explained 78.67% of the variability. Hierarchical cluster analysis divided the collection's accessions into seven groups based on five characteristics. Diversity at the molecular level was measured using 17 microsatellite markers. Total genetic diversity (He) was 0.30, while diversity within accessions was 19% (FST).

Conclusion and application of results: This work constitutes a first characterization of local genetic resources of purple maize, using morphological and microsatellite markers. Agro-morphological characterization and molecular characterization using microsatellite markers confirmed the effectiveness of both methods for characterizing purple maize varieties, but the microsatellite technique enables a much more detailed analysis. It has enabled us to gain a better understanding of the genetic relationships between purple maize accessions. Although this analysis would undoubtedly benefit from the addition of more markers, it has revealed the existence of intra-population diversity. The combined results of morphological and molecular data will enable a first approach to association genetics. Given that purple maize has been the subject of very few studies in Côte d'Ivoire, the descriptors identified could provide basic criteria for comparison in subsequent investigations.

Keywords: *Zea mays*, molecular, morphological, violet

INTRODUCTION

Le maïs (*Zea mays* L $2x = 2n = 20$) est connu dans le nord de la Côte d'Ivoire pour son importance en tant que principale culture alimentaire de base. Plusieurs variétés de maïs sont cultivées, cependant au centre nord du pays un type de maïs est rencontré. Il s'agit du maïs violet (Kouakou *et al.*, 2010 ; N'da *et al.*, 2013). Cette variété est d'une grande importance pour les populations de cette région de par ses vertus médicinales, ses qualités gustatives et son intérêt pour la sécurité alimentaire et nutritionnelle avec une application potentielle dans l'industrie alimentaire (Andreea *et al.*, 2023). Malheureusement ce super aliment de la nature est peu connu de l'ensemble de la population ivoirienne, si bien que sa culture est négligée même dans son lieu d'origine. Elle fait l'objet

de relativement peu de recherche et de développement. L'une des raisons de l'abandon de cette variété est l'introduction de variété améliorée à haute potentielle de rendement. Hormis le rendement de nombreuses autres contraintes sont à l'origine de la baisse de la culture du maïs violet notamment le manque de débouché contrairement au maïs à grain jaune préféré par les éleveurs de volaille de la région (N'da *et al.*, 2013). Aujourd'hui, seulement quelques villageois, des vieillards qui par habitude alimentaire et culturelle en cultivent encore (N'da *et al.*, 2013). Plusieurs études de diversités ont été réalisées sur le maïs dans le monde (Nawel B *et al.*, 2018 Rivas JG *et al.*, 2022) et en Côte d'Ivoire (N'da *et al.*, 2014 ; N'da *et al.*, 2015; N'da *et al.*, 2016) aussi bien

au niveau morphologique et récemment au niveau moléculaire. Mais très peu d'étude abordant la diversité du maïs violet a été faite. Pourtant cette variété selon des experts regorge de nombreuses propriétés nutritionnelles et thérapeutiques si bien que son amélioration et sa vulgarisation contribueront à la sécurité alimentaire et nutritionnelle de nos populations. En effet, riche en anthocyanes (Cai *et al.*, 2023 ; Kim *et al.*, 2023) ; grâce auxquels il doit sa sublime couleur pourpre, le maïs violet contient de nombreuses propriétés et à des vertus intéressantes pour la santé. Il est une source naturelle d'anti-oxydants et d'anti-radicaux. Le maïs violet est doté de multiples propriétés et vertus (Kim *et al.*, 2023). Les recherches 2023 à son sujet indiquent qu'il favorise une bonne santé cardiaque, qu'il améliore la circulation sanguine et lutte activement contre le vieillissement grâce à sa richesse en antioxydants. Aujourd'hui le maïs violet souffre de sérieuse érosion génétique à cause de leur remplacement par les variétés introduites. Pour préserver ce cadeau que la nature nous a offert, des collectes ont été réalisées par les chercheurs du Centre National de Recherche Agronomique (N'da *et al.*, 2013) pour les conserver en chambre froide. Tout programme de sélection, d'amélioration de la productivité et de conservation d'une espèce végétale nécessite une connaissance approfondie de sa diversité. L'évaluation et la préservation de la diversité génétique du maïs

violet sont fortement utiles pour la création variétale et son amélioration. Ce qui favorisera sa vulgarisation et son maintien dans son milieu d'origine. La caractérisation morphologique est importante pour la sélection mais est fortement influencée par l'environnement. A l'inverse, la caractérisation moléculaire est exempte d'effets environnementaux et permet d'obtenir des informations génétiques complémentaires très précieuses (Gauthier *et al.*, 2002). Les marqueurs moléculaires tels que les microsatellites (SSR) se sont révélés très utiles pour la caractérisation de la diversité génétique du maïs (Liu *et al.*, 2009 ; Eschholz *et al.*, 2010 ; Beyene *et al.*, 2016). Ils sont largement utilisés pour l'identification des accessions parce qu'ils sont hautement reproductibles, polymorphes et efficaces. L'objectif de la présente étude est d'évaluer la diversité génétique morphologique comme moléculaire et de définir une stratégie pour la conservation du maïs violet en Côte d'Ivoire. C'est la première fois qu'un tel travail se fait sur le maïs violet en Côte d'Ivoire. Les résultats d'une telle étude permettront de définir une stratégie d'exploitation du germoplasme et son utilisation dans la sélection de variétés améliorées performantes de maïs aux producteurs. La présente étude vient à point nommé pour apporter un plus au monde scientifique, et permettre de mettre en valeur du maïs violet.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Collecte du matériel végétal : Des missions de prospection et de collecte ont été réalisées dans la région du Hambol au centre nord de la Côte d'Ivoire, précisément dans les départements de Niakaramadougou, Fronan, Katiola et Dabakala. Soixante-dix (70) accessions de maïs violet (Figure 1), ont fait l'objet de cette étude. Ce matériel végétal est composé de 28 accessions issues de 11 villages du département de Katiola, de 26 accessions provenant de 10 villages du département de

Niakaramadougou et de 16 accessions originaires de 5 villages du département de Fronan (Figure 1). L'analyse moléculaire a porté sur 76 accessions, soit 70 accessions déjà utilisées dans la caractérisation agromorphologique et six accessions supplémentaires fournies par le département des ressources génétiques du CNRA (Centre National de Recherche Agronomique).

Caractérisation agro morphologique

Dispositif Expérimental : La caractérisation agro morphologique du matériel collecté a été réalisée à la station de recherche sur les cultures vivrières du CNRA à Bouaké (latitude: 7°41'N; longitude: 5°2'O). Un dispositif alpha-lattice (10 blocs de 7 entrées/répétition) avec trois répétitions a été

utilisé. Il a été mis en place après un labour suivi d'un apport de fumure de fond NPK de formule 15-15-15 à la dose de 150 Kg/ha. Pour chaque entrée quatre lignes de 5 m ont été semées en poquets avec un espacement de 0,75 m entre les lignes et 0,25 m entre les poquets sur la ligne.

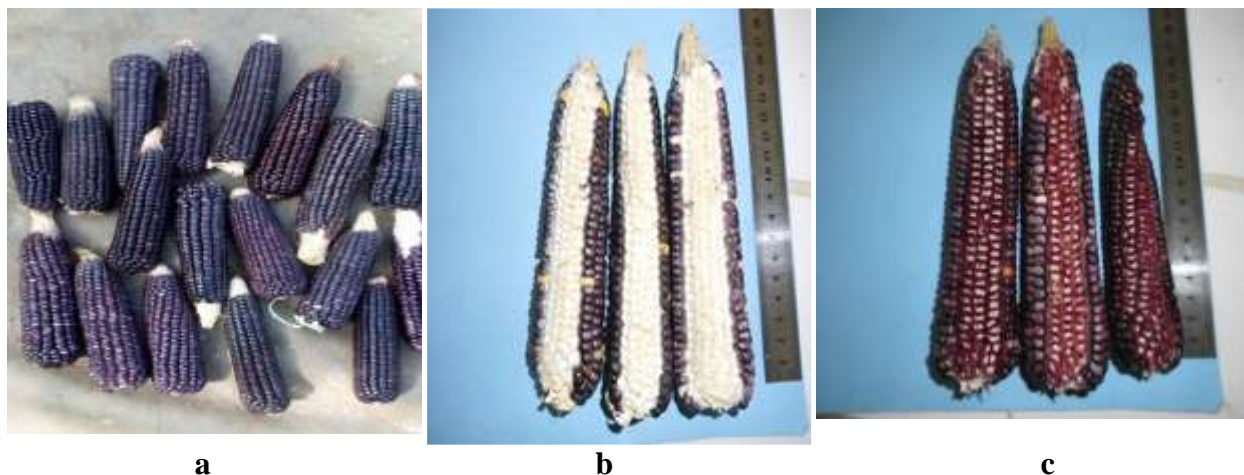


Figure 1 : Épis de maïs violets collectés au Centre Nord de la Côte d'Ivoire

Un démariage à un plant par poquet a été effectué quinze jours après la levée. Ce qui a permis d'obtenir une densité d'environ 53 333 plants à l'hectare. A la montaison (40 jours après semis), une application de 100 Kg/ha d'urée à 46% d'azote a été faite. L'essai a été conduit dans des conditions d'alimentation hydrique satisfaisante avec une pluviométrie utile de 655 mm et totale de 1300 mm. Un ensemble de 18 caractères a été observé en tenant compte des descripteurs du maïs proposés par *Bioversity International*. Ils ont trait à la phénologie des plants, au développement végétatif et de la panicule, à l'épi et aux grains. Les données phénologiques ont été notées tous les 2 ou 3 jours pendant toute la période de floraison sur l'ensemble de la parcelle élémentaire. Les descripteurs végétatifs et de la panicule ont été mesurés sur 10 plantes par accessions et par bloc, soit au total 30 plantes par accessions. Les descripteurs d'épis et de grains ont été mesurés sur 20 épis par accession, récoltés sur les

plantes dont les descripteurs végétatifs et de la panicule ont été mesurés.

Caractérisation moléculaire

Extraction, quantification et analyse de la qualité de l'ADN : L'extraction de l'ADN a été effectuée selon la méthode décrite par Reyes-Valdés *et al.* (2013). Cette méthode qui consiste à réaliser des bulks de 30 plantes par accession, est recommandée lorsqu'on a un grand nombre d'individus à analyser. Pour chaque accession, 30 graines ont été semées. Après 10 à 15 jours de germination une quantité égale de feuilles a été prélevée sur chacune des 30 plantules pour former un bulk. Afin de surmonter les problèmes liés à la dilution de l'ADN, les 30 plantules ont été divisées en trois lots de 10 plantules. L'extraction de l'ADN bulk, à partir du mélange des feuilles de chaque lot, a eu lieu sans l'apport de l'azote liquide. Les fragments de 150 mg de feuilles fraîches ont été finement broyés avec une bille de tungstène par agitation dans un broyeur FastPrep®-24 MP. Les ADNsbulk ont été extraits et purifiés suivant le

protocole du kit ZR *Plant/Seed DNA MiniPrep*TM (ZymoResearch Corporation, Californie, USA). L'intégrité, la qualité et la quantité de l'ADN extrait ont été vérifiées respectivement par électrophorèse sur gel d'agarose (0,8%) et par spectrophotométrie aux UV (260 nm et 280 nm). Les ADN ont été ensuite conservés au congélateur à -20°C jusqu'à l'analyse.

Amplification par PCR et analyse SSR :

L'amplification a été faite par Réaction de Polymérase en Chaîne (RPC), en utilisant 17 marqueurs microsatellites issus de la base de données du maïs (<http://www.maizgdb.org>). Ces amorces ont été choisies de façon à couvrir l'ensemble du génome du maïs de manière homogène. Le mix préparé pour la RPC est commun à l'ensemble des amorces. Le volume final utilisé est de 10 µL pour un individu. La solution était composée de 2 µl d'ADN génomique à 25ng/µl, 5 µl du kit PCR, 0,1 µL d'amorce sens allongé avec une queue M-13 (0,20 µM), 0,1 µL d'amorce anti-sens (0,20 µM), 0,1 µL de queue M13 marqué par un fluorochrome spécifique de type IRD 700 (Pentaméthinecarbocyanine) ou IRD 800 (heptaméthinecyanine) à 0,1 µM et 2,7 µL d'eau ultra pure (qsp). Le Kit PCR utilisé est le *DreamTaq*TM *Green PCR Master Mix 2X* (Thermo Scientific, InqabaBiotec). Il est constitué du tampon 2X (*2X DreamTaq Green buffer*), contenant 4 mM de MgCl₂, 0,4mM de chaque désoxyribonucléotide (DNTP) et une Unité de Taq polymérase (*DreamTaq DNA polymerase*). La réaction d'amplification a été réalisée dans le thermocycleur "GeneAmp® PCR System 9700" (AppliedBiosystems). Les conditions d'amplification appliquées étaient les suivantes : 2 min de dénaturation initiale à 94°C, suivie de 30 cycles, comprenant chacun une dénaturation à 94°C (30 s), une hybridation à la température optimale déterminée X°C (1 min) et une élongation à 72°C (1 min). Une fois les 30 cycles terminés, une dernière étape d'élongation finale a été programmée pendant 5 minutes à 72°C. Les

X°C se réfèrent aux températures d'hybridations de chaque amorce (46°C, 48°C, 50°C ou 52°C). Pour chacune des PCR, nous avons fait migrer un témoin négatif contenant l'ensemble des composants de la réaction sans l'ADN matrice dans le but d'évaluer s'il n'y a pas eu de contamination. Les produits d'amplification ont été analysés grâce à un séquenceur de type LI-COR® (LI-COR, Lincoln, NE, USA, Biosciences). La migration des produits amplifiés a été effectuée sur un gel d'acrylamide 6,5%. La solution tampon d'électrophorèse est du TBE 1X (Tris (89mM), Acide Borique (89mM), EDTA 2 mM), ddH 20. L'image brute est exportée sur un logiciel d'analyse (SAGATM) afin d'obtenir l'assignation de taille des allèles sur la base d'une comparaison avec un marqueur de taille.

Analyses statistiques des données :

Analyse des données morphologiques : Pour la caractérisation morphologique, la normalité des variables mesurées a été appréciée en observant les courbes de distribution des fréquences. Par la suite des analyses descriptives ont été réalisées avec le logiciel SPSS version 16.0. La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation ont été calculés pour l'ensemble des accessions afin d'évaluer la variabilité entre les accessions. Le grand volume des données morphologiques justifie l'emploi d'un autre type d'analyse comme les analyses multi-variées. Une analyse en composantes principales, suivie d'une classification hiérarchique ascendante ont donc été réalisées, afin de regrouper les accessions en différentes classes homogènes et pour déterminer les descripteurs et les accessions intéressantes pour les futures programmes de sélection et d'amélioration génétique. Avant de réaliser les analyses multi-variées, les données ont été standardisées de telle sorte que leur moyenne soit nul et leur écart type soit égal à 1. Les logiciels SPSS version 16.0 et Statistica version 7.1 ont été utilisés à cet effet.

Analyse des données moléculaires

Statistiques descriptives : Concernant la caractérisation moléculaire, les résultats de présence ou d'absence de bandes ont été convertis en une matrice (0, absence de la bande; 1 présence de la bande). A partir de cette matrice binaire, le nombre moyen d'allèles par locus (N_a), le nombre effectif d'allèle par locus (N_e), le pourcentage de polymorphisme (P), en utilisant 99% comme critère de polymorphisme, l'hétérozygotie observée (H_o) et l'hétérozygotie estimée (H_e) ont été calculés. Ces paramètres ont été obtenus avec POPGENE ver. 1.32 (Yeh *et al.*, 1997).

Structuration de la diversité génétique

Classification basée sur les distances entre individus : La matrice contenant la taille des allèles par locus et par individu a été utilisée sous le logiciel Darwin 5.01 (Perrier & Jacquemoud-Collet, 2006) pour calculer dans un premier temps des distances "simple

matching" (Perrier & Jacquemoud- Collet, 2006) entre individus. La dissimilarité d_{ij} est :

$$d_{ij} = 1 - \frac{1}{L} \sum_{l=1}^L \frac{m_l}{\pi}$$

La matrice de dissimilarités a ensuite été utilisée pour construire un dendrogramme avec la méthode du *Neighbor-joining* développée par Saitou & Nei (1987). Cette méthode a pour principe le regroupement séquentiel des accessions voisines (déclarant les éléments i et j comme voisins quand la dissimilarité entre i et j est la plus faible) en minimisant la longueur totale de l'arbre. La robustesse des nœuds a été testée en appliquant 1000 ré-échantillonnages (bootstraps). Ces analyses ont été faites à l'aide du logiciel DARwin version 6 (*Dissimilarity Analysis and Representation for Windows*, <http://darwin.cirad.fr/darwin>) (Perrier & Jacquemoud-Collet, 2006).

RÉSULTATS

Caractérisation agro-morphologique

Analyse descriptive : Les résultats de la description morphologique des accessions du maïs violet sont récapitulés dans le tableau 1. La plupart des caractères ont des coefficients de variation moyens. Les plus grands coefficients s'observent pour le nombre de ramification tertiaire (CV = 55,35%), la longueur du grain (CV = 17,29%), la largeur du grain (CV = 15,34 %) et le nombre de ramification secondaire (CV = 15,12%). Toutefois, des écarts importants ont été observés entre les valeurs minimales et les

valeurs maximales. Ceci témoigne de l'existence d'une diversité entre les accessions. Par exemple, les cycles semis-floraison mâle (FIMa) et femelle (FIFe) varient de 55 à 68 jours avec une moyenne respective de $61,18 \pm 2,74$ et $61,66 \pm 3,05$ jours. La hauteur des plants varie de 175,25 cm pour les accessions les plus courtes à 233,25 cm pour les accessions les plus grandes avec une moyenne de $201,04 \pm 11,37$. La longueur des épis varie de 10,85 à 15,90 cm selon les accessions, avec une moyenne de $13,64 \pm 0,90$ cm.

Tableau 1: Valeurs des 18 caractères quantitatifs utilisés pour la caractérisation agro morphologique des accessions de maïs violet.

Variables	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Écart-type	Variance	Coefficient de variation (%)
FlMa	70	55	68	61,18	2,74	7,515	4,48
FlFe	70	55	68	61,66	3,05	9,294	4,94
NoFe	70	12,6	16,6	13,90	0,59	0,348	4,25
HaPl	70	175,25	233,25	201,04	11,37	129,468	5,66
HiEp	70	90,5	129,5	109,68	9,65	93,131	8,80
LoPa	70	37,55	46,4	41,44	1,78	3,203	4,32
LoPP	70	4,80	13,9	10,83	1,55	2,416	14,36
NRPr	70	9,65	15,4	12,54	1,41	1,992	11,25
NRSe	70	1,33	2,8	2,09	0,31	0,1	15,12
NRTe	70	0,10	1,2	0,44	0,24	0,06	55,35
PoEr	70	1,61	3,38	2,33	0,31	0,099	13,48
LoEp	70	10,85	15,9	13,64	0,90	0,811	6,60
NRGr	70	11	14,4	12,55	0,72	0,526	5,77
NGRa	70	15,9	36,8	30,45	2,65	7,041	8,71
DiEp	70	3,2	4	3,50	0,16	0,025	4,54
LoGr	70	2	4	2,96	0,52	0,262	17,29
LaGr	70	0,62	1,94	1,06	0,16	0,027	15,34
P100G	70	17,08	27,78	21,00	2,03	4,119	9,67

FlMa = Floraison mâle, FlFe = Floraison femelle, HaPl = Hauteur de la plante, HiEp = Hauteur d'insertion de l'épi, NoFe = Nombre moyen de feuilles LoPP = Longueur du pédoncule de la panicule, LoPA = Longueur de la panicule, NRPr = Nombre de branches primaires de la panicule, NRSe = Nombre de branches secondaires ; NRTe = Nombre de branches tertiaires ; LoEp = Longueur de l'épi, NRGr = nombre de rangée de grains, NGRa = Nombre moyen de grains par rangée, DiEp = Diamètre de l'épi, LoGr = longueur des grains, LaGr = Largeur des grains, P100G = Poids de 100 grains.

Analyses multi variées

Analyse en Composantes Principales (ACP) :

L'ACP a été réalisée sur l'ensemble des 18 variables quantitatives. Selon la règle de Kaiser, les facteurs dont la valeur propre est supérieure à 1 ont été conservés. En premier lieu, nous nous sommes assurés que les données étaient factorisables en réalisant 7 ACP successives où nous avons, à chaque étape, vérifié la pertinence d'une factorisation des données, dès lors que nous retirions une variable de l'analyse. Les 7 ACP ont conduit au retrait de 10 variables soit parce qu'elles étaient mal expliquées par les facteurs retenus du fait d'un score de communalité inférieur à 0,5, soit parce qu'elles étaient fortement chargés sur plusieurs facteurs. L'ACP réalisée

sur les 8 variables ayant une qualité de représentation supérieure à 0,5, fait ressortir 3 facteurs dont la valeur propre est supérieure à 1. Ces facteurs expliquent respectivement 42,338%, 22,046% et 14,290% de la variance de l'inertie totale du nuage ce qui constitue un total de 78,675% (Tableau 2). Trois des huit variables sont positivement corrélées avec le premier facteur. Il s'agit du cycle de semi-floraison mâle (FlMa), du cycle de semi-floraison femelle (FlFe) et du nombre de feuilles. Cet axe peut être décrit comme l'axe de précocité. Le deuxième axe est positivement corrélé aux variables nombre de grains par rangée (NGRa), longueur des épis (LoEp) et poids des épis (PoER). Cet axe peut être considéré comme l'axe du rendement. Deux

variables sont fortement corrélées avec le troisième axe. Ce sont les hauteurs des plants (HaPl) et d'insertion des épis (HiEp). Cet axe

peut être défini comme l'axe du développement végétatif.

Tableau 2: Communalités, Vecteurs propres et pourcentage de variation exprimée par les trois premiers axes de l'analyse des composantes principales.

Variables	Communalités	KMO	Axe 1	Axe 2	Axe 3
FlMa	0,964	0,839	0,969	0,096	0,123
FlFe	0,950	0,835	0,969	0,008	0,105
NoFe	0,633	0,815	0,620	0,122	0,484
HaPl	0,802	0,810	0,123	0,161	0,873
HiEp	0,834	0,956	0,173	0,122	0,888
PoER	0,643	0,800	0,124	0,695	0,381
LoEp	0,716	0,546	0,218	0,817	0,033
NGRa	0,752	0,779	-0,131	0,853	0,079
Valeurs propres			3,387	1,763	1,143
% variance expliquée			42,338	22,046	14,290
% variance expliquée cumulée			42,338	64,384	78,675
Méthode de rotation : Varimax avec normalisation de Kaiser					

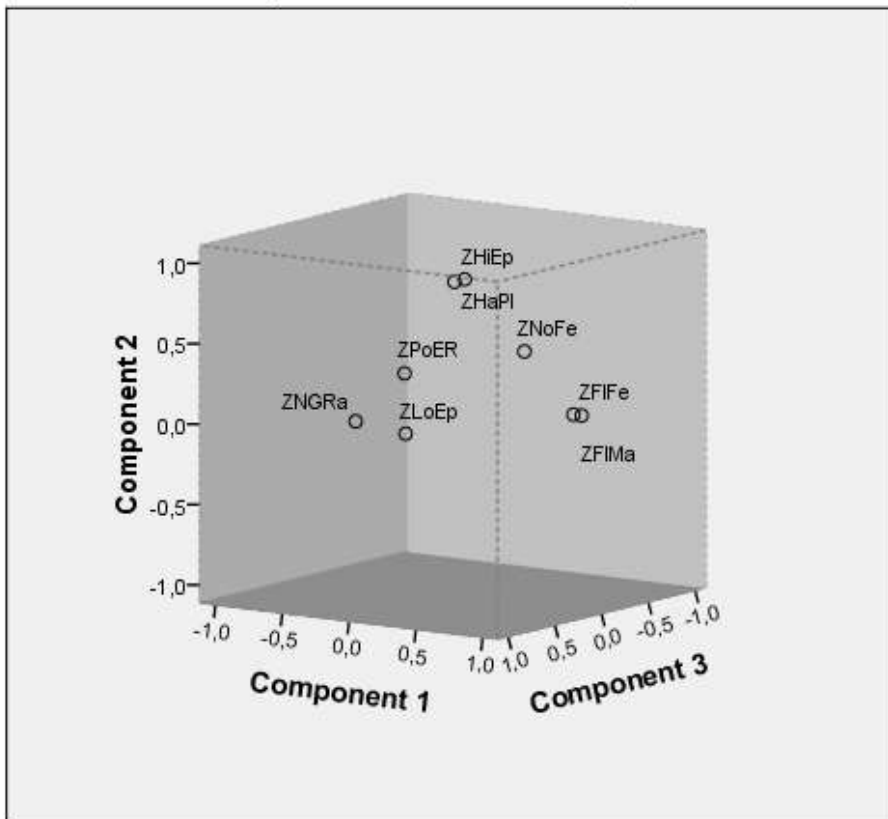


Figure 2: Projection des variables dans le plan 1-2 de l'analyse en composantes principales

Structuration de la diversité agro-morphologique des maïs à grains violets du Centre-Nord de la Côte d'Ivoire : La projection des individus sur le plan principale formé par les axes 1 et 2 (Figure 2) a donné une image plus globale de la diversité, mais n'a pas permis de distinguer une structuration morphologique claire compte tenu du nombre élevé d'accessions analysées. Cependant, l'examen des contributions et des cosinus carrés a indiqué les accessions qui ont le plus contribué à la formation des composantes. Ces

accessions sont situées à l'extrémité du plan. Ainsi, la première composante a opposé les accessions précoces présentant peu de feuilles (acc46 ; acc16 ; acc56 ; acc4 ; acc17 ; acc11 ; acc31 ; acc19 ; acc26 ; acc60 ; acc58), aux accessions plus tardives avec de nombreuses feuilles (acc68 ; acc57 ; acc69 ; acc55 ; acc63 ; acc49 ; acc39). La deuxième composante a séparé les accessions à épis plus court (acc28 ; acc39 ; acc32), des accessions à épis longs (acc20 ; acc54 ; acc70 ; acc25 ; acc18).

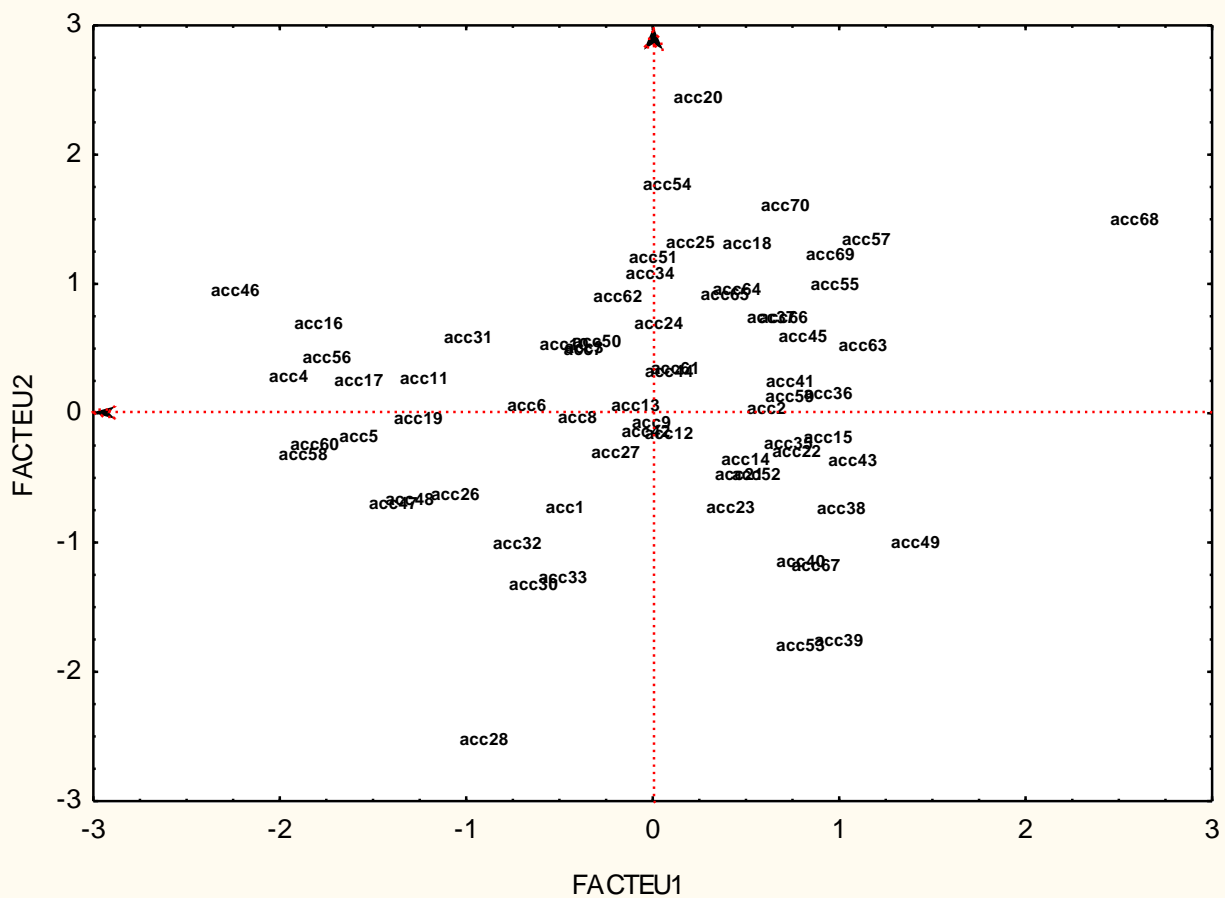


Figure 3. Projection des individus dans le plan 1-2 de l'analyse en composantes principales

Afin d'affiner les regroupements obtenus au niveau de l'ACP, une classification hiérarchique ascendante a été réalisée. La méthode de regroupement utilisée est celle de Ward (Ward, 1963) avec comme distance, celle dite euclidienne. L'analyse de variance

multivariée a permis de déterminer le nombre de classes optimales. C'est à la suite de la scission en deux (02) groupes que la valeur de F ($F = 9,93$; $P < 0,001$) est la plus élevée. La partition en deux groupes apparaît optimale, elle a donc été retenue (Figure 3).

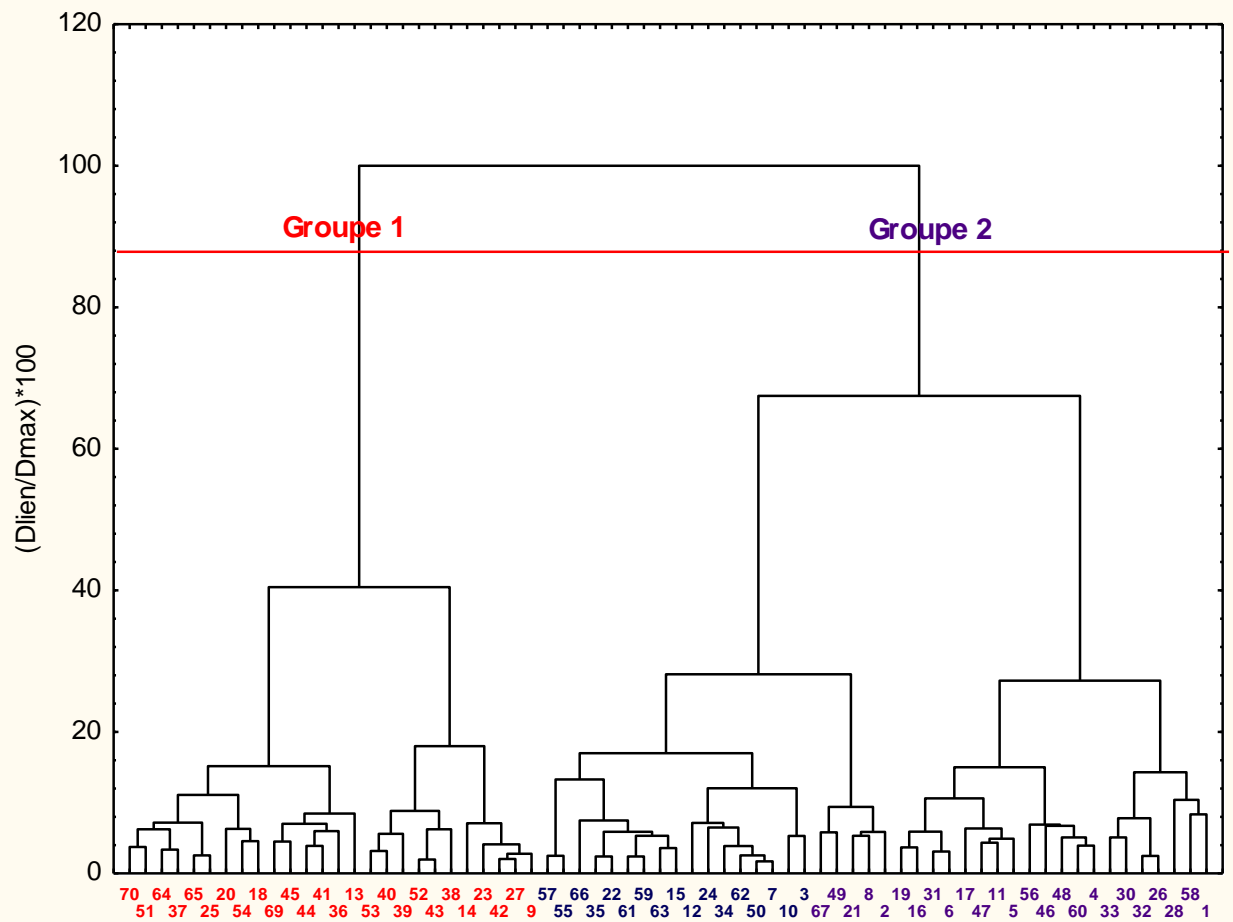


Figure 5 : classification hiérarchique suivant la méthode Ward des 70 accessions de maïs violet décrites par leurs caractéristiques agro morphologiques

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée, afin de décrire chacune des classes issues de la typologie. Le tableau 3 présente les caractéristiques des différents groupes obtenus. Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée sur chaque variable séparément. Ces analyses ont révélées les caractères spécifiques qui ont permis de différencier les groupes issus de la classification. Tous les caractères, à l'exception du nombre moyen de grains par rangée ($F = 0,89$; $P = 0,3494$) et du poids des épis à la récolte ($F = 3,98$; $P = 0,0499$) ont montré une différence hautement

significative ($P < 0,001$) entre les accessions des deux groupes (**Tableau 4**).

➤ Le **premier groupe** est constitué de 26 accessions soit 38,24 % du total. Les accessions de ce groupe ont une floraison tardive et sont de grandes tailles. Par ailleurs, c'est dans ce groupe que l'on retrouve les individus présentant les meilleurs caractéristiques du rendement (épis longs).

➤ Le **deuxième groupe** est numériquement le plus important (61,76 %). Il est composé des accessions de cycle précoce et de taille plus petite. Les épis sont de taille moyenne.

Tableau 3 : caractéristiques principales des différents groupes formés par la classification ascendante hiérarchique et analyse de variance

Variables	Groupes		F	P
	1	2		
FIMa	62,96 ± 0,42 b	59,84 ± 0,33 a	33,56	< 0,001
FIFe	63,51 ± 0,49 b	60,27±0,38 a	26,62	< 0,001
HaPI	210,49±1,59 b	195,30±1,25 a	55,72	< 0,001
HiEp	117,54 ± 1,33 b	104,80±1,05 a	56,29	< 0,001
LoEp	14,05±0,16 b	13,37 ± 0,12 a	10,53	0,0018
NGRa	30,93 ± 0,39 a	30,46±0,30 a	0,89	0,3494
PoER	2,41 ± 0,05 a	2,27±0,04 a	3,98	0,0499
Effectifs	26	42	-	-
	38,24 %	61,76 %	-	-

Caractérisation moléculaire

Analyse du polymorphisme des bandes révélées par SSR : Le nombre d'individus génotypés a varié entre 148 et 152 selon le locus. Les 17 locus utilisés pour cette étude ont permis une meilleure amplification de l'ADN des accessions de maïs. Les produits d'amplification obtenus ont généré des profils polymorphes pour 11 amorces (soit 64,71%) et des profils monomorphes pour 6 amorces.

Diversité génétique des populations : Un total de 40 allèles a été identifié à partir des 17 locus analysés. Le nombre moyen d'allèles (A) par locus microsatellite a varié entre 1 (phi006, phi072, phi114, phi121, phi389203, umc1061) et 5 (umc1152) avec une moyenne de 2,353 allèles. Les nombres moyens d'allèles efficaces (ne) sont plus faibles, 1,408 en moyenne. Les taux d'hétérozygotie attendue sous l'hypothèse de la panmixie ont été de 0,206 en moyenne, mais ils ont varié de 0 à 0,644.

Structuration et similarité génétique : Les accessions étudiées ont été réparties en trois grands groupes distincts A, B et C.

- Le groupe A est subdivisé en trois sous-groupes dénommés A1, A2 et A3. Dans le

sous-groupe A1, les accessions 58, 26 et 32 semblent génétiquement identiques. Au sein du sous-groupe A2, les accessions 29 et 21 sont identiques. Toujours au sein de ce sous-groupe on observe une forte similarité entre les accessions 28 et 23. Au niveau du sous-groupe A3, seules les accessions 42 et 37 sont identiques et génétiquement différentes des autres.

- Le groupe B se divise en deux sous-groupes: B1 et B2. Dans le sous-groupe B1, seules les accessions 55 et 34 divergent des autres. Les autres accessions ont été subdivisées en deux groupes. Le premier groupe est constitué des accessions 75, 59, 18, 40, 30 et 27 qui sont génétiquement identiques et le second groupe des accessions 71, 33 et 43 eux aussi similaires. Au niveau du sous-groupe B2, les accessions 56 et 19 sont très similaires, de même que les accessions 57, 39 et 60. Les accessions 74 et 7 sont aussi similaires entre eux.

- Le groupe C est constitué de 7 accessions, parmi lesquelles l'accession 66 semble être très divergente des autres.

Tableau 4: Variation génétique des locus microsattellites.

Locus	Na	Ne	Ho	He
Phi006	1,000	1,000	0,000	0,000
Phi056	3,000	1,833	0,684	0,458
Phi064	4,000	2,160	0,934	0,540
Phi072	1,000	1,000	0,000	0,000
Phi083	3,000	2,129	0,842	0,534
Phi085	3,000	2,773	0,853	0,644
Phi112	2,000	1,013	0,013	0,013
Phi114	1,000	1,000	0,000	0,000
Phi121	1,000	1,000	0,000	0,000
Phi233376	3,000	1,040	0,039	0,039
Phi389203	1,000	1,000	0,000	0,000
Umc1061	1,000	1,000	0,000	0,000
Umc1136	3,000	2,027	0,986	0,510
Umc1143	3,000	1,271	0,237	0,215
Umc1152	5,000	1,414	0,303	0,295
Umc1153	3,000	1,126	0,118	0,113
Umc1277	2,000	1,155	0,144	0,135
Total	40			
Moyenne	2,353	1,408	0,303	0,206
Ecart-type	1,221	0,557	0,385	0,238

Similarités génétiques : L'analyse du dendrogramme (Figure 3) a montré que les accessions étudiées se répartissent en trois grands groupes distincts A, B et C.

- Le groupe A est subdivisé en trois sous-groupes dénommés A1, A2 et A3. Dans le sous-groupe A1, les accessions 58, 26 et 32 semblent génétiquement identiques. Au sein du sous-groupe A2, les accessions 29 et 21 sont identiques. Toujours au sein de ce sous-groupe on observe une forte similarité entre les accessions 28 et 23. Au niveau du sous-groupe A3, seules les accessions 42 et 37 sont identiques et génétiquement différentes des autres.

- Le groupe B se divise en deux sous-groupes: B1 et B2. Dans le sous-groupe B1, seules les accessions 55 et 34 divergent des autres. Les autres accessions ont été subdivisées en deux groupes. Le premier groupe est constitué des accessions 75, 59, 18, 40, 30 et 27 qui sont génétiquement identiques et le second groupe des accessions 71, 33 et 43 eux aussi similaires. Au niveau du sous-groupe B2, les accessions 56 et 19 sont très similaires, de même que les accessions 57, 39 et 60. Les accessions 74 et 7 sont aussi similaires entre eux.
- Le groupe C est constitué de 7 accessions, parmi lesquelles l'accession 66 semble être très divergente des autres.

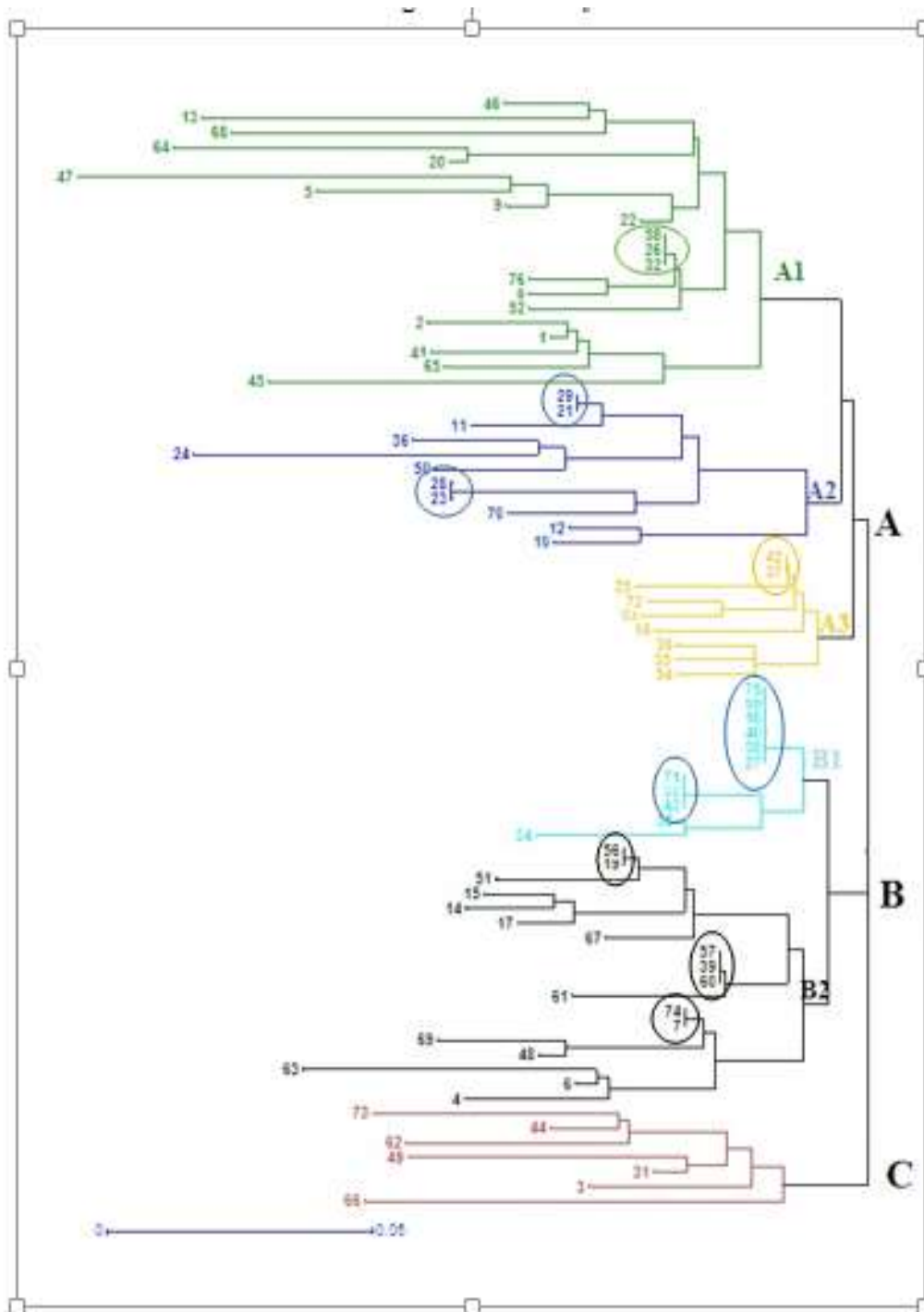


Figure 4: Arbre issu d'une classification Neighbor-Joining sur la matrice de distance entre les 76 accessions analysées, basée sur 17 marqueurs SSR. Les six différentes couleurs (verte, bleu foncée, jaune, bleu claire, noire et rouge) correspondent à l'affectation majoritaire de chaque accession à l'une des groupes.

Légende : A, B et C : groupes

A1, A2, A3; B1 et B2 : sous-groupes

Les accessions dans le cercle correspondent aux accessions génétiquement similaires

Les six différentes couleurs : verte, bleu foncée, jaune, bleu claire, noire et rouge correspondent à l'affectation majoritaire de chaque accession à l'un des groupes

DISCUSSION

Les espèces alimentaires négligées et sous-utilisées jouent un rôle crucial dans la lutte contre la faim et la sécurité alimentaire de millions d'êtres humains à travers le monde. Elles représentent une ressource essentielle pour le développement agricole et la lutte contre la pauvreté, surtout dans les régions rurales (Agridape, 2016). C'est le cas du maïs violet, une céréale qui, malgré son potentiel tant sur le plan agronomique que nutritionnel, reste très peu connu et exploité en Côte d'Ivoire. La présente étude avait pour objectif d'analyser la diversité au plan morphologique et moléculaire de 70 accessions de maïs violet collectées au centre nord de la Côte d'Ivoire. En effet, la connaissance de la diversité génétique et sa structuration permettra de définir une stratégie pour la conservation de cette variété aussi bien *in situ* qu'*ex situ*. La grande diversité morphologique observée entre les maïs violets de Côte d'Ivoire a permis de les structurer en sept groupes. L'analyse des composantes principales a permis d'identifier les variables qui structurent cette diversité. Les résultats de cette analyse ont montré en effet que les trois premiers axes décrivent 78,675 % de la variance totale. Cette forte représentativité de ces axes témoigne d'une organisation phénotypique forte des variétés de maïs violet étudiées. Les caractères agro-morphologiques fortement corrélés aux axes des composantes principales 1 ; 2 et 3 (CP1, CP2 et CP3) sont dominés par les descripteurs phénologiques (nombre de jours à 50 % de floraison mâle, nombre de jours à 50 % de floraison femelle), végétatifs (hauteurs de la plante et d'insertion des épis, nombre de feuilles en-dessous de l'épi principal), de l'épi (poids des épis, longueur des épis, nombre moyen de rangées de grains). Cela suggère que ces descripteurs sont les plus pertinents pour l'explication de la variabilité entre les variétés locales de maïs violet de Côte d'Ivoire. Etant donné que le maïs violet ait fait l'objet de peu d'étude en Côte d'Ivoire, ces descripteurs

pourraient constituer des critères de base pour des investigations ultérieures. La structuration de la diversité observée au niveau morphologique pourrait résulter des pratiques paysannes qui prennent en compte surtout la floraison et les caractéristiques de l'épi comme critères de choix des semences. N'da *et al.* (2014) attestent que la sélection massale élaborée chaque année par les agriculteurs pour reconduire la culture, favorise la différenciation entre les cultivars locaux. Le rôle de ces descripteurs dans la différenciation des variétés de maïs a été mis en évidence par plusieurs auteurs (Harada *et al.*, 2009 ; Murariu *et al.*, 2011 ; Salami *et al.*, 2015. Louette et Smale (2000), à travers les résultats de l'étude réalisée sur les pratiques de sélection des semences par les producteurs de Cuzalapa, au Mexique, ont révélé que la sélection phénotypique basée sur les caractéristiques de l'épi contribue à maintenir une différenciation phénotypique entre les variétés de maïs malgré d'important flux de gènes. Ces résultats corroborent aussi ceux obtenus dans l'État de Puebla au Mexique par Lopez-Moralès *et al.* (2014). En dépit de son importance dans l'évaluation de la diversité génétique, les marqueurs morphologiques sont limités car influencés par l'environnement (Mathiang *et al.*, 2022). Il est donc nécessaire d'utiliser d'autres marqueurs génétiques tels que les microsatellites. Cette technique permet une analyse plus fine et plus précise des génomes et de mieux caractériser les cultivars. Les microsatellites sont des marqueurs génétiques très populaires en raison de leur hérédité co-dominante, de leur grande abondance, de l'énorme étendue de la diversité allélique et de la facilité d'évaluer la variation de taille des SSR par PCR avec des paires d'amorces flanquantes. La reproductibilité des microsatellites est telle qu'ils peuvent être utilisés efficacement par différents laboratoires de recherche pour produire des données cohérentes (Saghai-Marooof *et al.*, 1984). Dans

la présente étude, un échantillon de 70 individus provenant de sept accessions a été sélectionné pour être génotypé, afin d'estimer la diversité et la structure génétique des accessions de maïs violet. L'analyse de la diversité a permis de mettre en évidence un niveau d'hétérozygotie espérée relativement élevé au sein des sept accessions de maïs violet ($H_e = 0,26$). Cette observation est en adéquation avec un régime de reproduction allogame qui serait celui de l'espèce. Nos résultats corroborent avec ceux de Hamrick & Godt (1997). Ces auteurs ont montré dans une étude de référence que chez les plantes allogames, la diversité génétique intra-population varie entre 0,103 et 0,266. Le niveau élevé d'hétérozygotie détecté au sein des accessions suggère que des stratégies d'amélioration par sélection récurrente peuvent être efficace dans le développement de variété à pollinisation libre (Menkir *et al.*, 2007). L'analyse du dendrogramme a montré de fortes similarités génétiques entre certains individus. Suite à cette étude, une préconisation pour les sélectionneurs serait de ne pas associer deux accessions similaires dans un même croisement puisque leur structure génétique est très proche. Par contre, le croisement des individus génétiquement éloignés pourrait permettre d'obtenir des effets d'hétérosis. La relation entre hétérosis et distance génétique a déjà été mise en évidence chez le maïs et d'autres espèces comme la féverole et le mil (Brunel, 1985). Le niveau élevé d'hétérozygotie détecté au sein des accessions suggère que des stratégies d'amélioration par sélection récurrente peuvent être efficace dans le développement de variété à pollinisation libre (Menkir *et al.*, 2007). Pour la population totale sur la base de multi locus, l'hétérozygotie non biaisée a été de 0,30 qui est supérieure à l'hétérozygotie observée qui est de 0,25. Cet écart positif entre les deux types d'hétérozygotie s'expliquerait sans doute par une forte structuration de la population et par la consanguinité. Par ailleurs, l'analyse de la

diversité allélique a révélé en moyenne 2.75 allèles par locus pour l'ensemble des 70 individus analysés. Cela révèle un potentiel génétique important pour une meilleure exploitation. Une telle diversité, en procurant une réserve en allèles relativement importante, paraît suffisante, au moins dans un premier temps, pour entreprendre une sélection récurrente efficace. En effet, plusieurs programmes de sélection ont montré que les populations avec trois ou quatre allèles par locus répondent efficacement à plusieurs cycles de sélection récurrente (Hinze *et al.*, 2005 ; Romay *et al.*, 2011). Par ailleurs, le coefficient de différenciation inter-populations a montré que la diversité de cette collection est plutôt faible. 81 % de la variance est due à une variance intra-population et 19 % due à la variance inter-population ce qui signifie que les accessions sont peu différentes les unes des autres. Cette faible différenciation pourrait s'expliquer par le fait qu'il existe des flux de gènes entre accessions, dus à la proximité des champs ou aux échanges de semences entre différents groupes de producteurs de différents villages. Pour une espèce naturellement allogame comme le maïs, ces événements biologiques sont des plus probables. Les échanges de gènes entre populations homogénéisent la variation génétique spatiale et entraînent une réduction de la différenciation génétique entre populations (Slatkin, 1985). La contribution élevée de la diversité génétique intra-population à la diversité génétique totale, observée dans notre matériel végétal, a été aussi mise en évidence par Lopes *et al.* (2015) dans une étude sur la diversité génétique des cultivars de maïs sweet corn utilisant des microsatellites (75 % de la variance due à la variance intra-population et 25 % due à la variance inter-population). Des résultats similaires ont été également obtenus sur l'étude de la diversité génétique de 37 génotypes de maïs résistant au *Striga* avec 85 % de la variance due à la variance intra-population et 13 % due à la variance inter-

population (Shayanowako *et al.*, 2018). Compte tenu de cette contribution élevée de la diversité génétique intrapopulation à la diversité génétique totale, les cultivars de maïs violet cultivés au centre nord de la Côte d'Ivoire peuvent être considérés comme des sources potentielles de réservoir génétique pour la conservation *in situ*. Enfin, l'analyse du dendrogramme a montré de fortes similarités génétiques entre certaines accessions. Suite à cette étude, une préconisation pour les

sélectionneurs serait de ne pas associer deux accessions similaires dans un même croisement puisque leur structure génétique est très proche. Par contre, le croisement des individus génétiquement éloignés pourrait permettre d'obtenir des effets d'hétérosis. La relation entre hétérosis et distance génétique a déjà été mise en évidence chez le maïs et d'autres espèces comme la féverole et le mil (Brunel, 1985).

CONCLUSION ET APPLICATION DES RESULTATS

Cette étude est une approche pionnière de l'évaluation de la diversité génétique et de la structure des variétés locales de maïs violet du Centre Nord de la Côte d'Ivoire. Dans le contexte du changement climatique, les stratégies de résilience devraient prendre en compte la nécessité d'approfondir les connaissances sur les espèces négligées et sous-utilisées. Les multiples inconnus qui caractérisent de telles variétés devraient justifier un déploiement ambitieux de ressources vers la recherche et leur valorisation. Il y va de la sécurité alimentaire durable des communautés et l'alimentation des populations sera plus équilibrée. Cela engendrerait également moins de pression sur les terres et les espèces déjà surutilisées. Les connaissances sur la structure et la diversité génétique des variétés locales négligées ou sous-utilisées sont d'une grande importance pour établir, d'une part les stratégies de conservation des ressources génétiques de ces variétés, d'autre part les stratégies de son amélioration et de son adaptation aux besoins de l'agriculture. Il n'existe pas d'étude qui ont exploré la diversité génétique des variétés locales de maïs violet en Côte d'Ivoire. Ce travail constitue donc une première caractérisation des ressources génétiques locales des maïs violets, à l'aide de marqueurs morphologiques et moléculaires (microsatellites). La caractérisation agro morphologique à travers la classification

hiérarchique a permis de structurer la diversité morphologique en deux groupes morphologiques ($F = 9,93$; $P < 0,001$). Les cycles de semis-floraison (FIMa et FIFe), les hauteurs des plants (HaPl et HiEp) ainsi que la longueur des épis (LoEp) ont été les principaux caractères discriminants entre les groupes. Etant donné que les maïs violet ont fait l'objet de très peu d'études en Côte d'Ivoire, les descripteurs identifiés pourraient constituer des critères de base de comparaison pour les investigations ultérieures. L'analyse moléculaire a permis d'avoir une meilleure connaissance des relations génétiques existant entre les accessions de maïs violet. Bien que cette analyse mérite d'être enrichie avec l'apport d'autres marqueurs en plus grand nombre, elle a révélé l'existence de trois grands groupes au sein de la collection. La collection est riche de matériels génétiques potentiellement intéressants pour créer et améliorer la productivité du maïs violet en Côte d'Ivoire. L'identification de doublons permettra de réduire la collection pour une utilisation optimale. En outre, il serait judicieux d'extraire des lignées de ces groupes pour former des groupes hétérotiques qui serviront à la création de variétés hybrides ou synthétiques. Afin de mieux les valoriser, de multiples stratégies doivent être mises en œuvre. Celles-ci peuvent être regroupées sous des lignes directrices stratégiques, soit : 1) l'amélioration de la recherche scientifique et la

dissémination de l'information; le maintien de la diversité par la conservation *ex situ* et *in situ* des maïs violet; 2) l'établissement de politiques favorables à l'échange de semences et à la commercialisation des du maïs violet; 3) l'augmentation du financement des programmes de valorisation; 4) le renforcement des capacités des acteurs et l'amélioration de la compétitivité économique des maïs violet; 5) la promotion du maïs violet auprès des décideurs, producteurs et

consommateurs par l'organisation de fête dédiée au maïs violet. Par ailleurs, la conservation *in-situ* de la diversité doit s'inscrire dans des actions intégrées de développement rural. La recherche peut y contribuer par la valorisation des variétés locales dans des schémas de sélection participative et par une conservation dynamique de ces ressources sous forme de populations à large base génétique.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements au Fonds Interprofessionnel pour la Recherche et le Conseil Agricoles

(FIRCA), pour avoir financé ce travail dans le cadre du projet -WAAPP "Reconstitution des ressources génétiques des maïs".

RÉFÉRENCES

- Andreea S, Teodora DP and Zorița MD. 2023. Purple Corn Cob: Rich Source of Anthocyanins with Potential Application in the Food Industry. In book: Flavonoid Metabolism - Recent Advances and Applications in Crop Breeding [Working Title]
- N'da HA, Akanvou L and Kouakou CK. 2013. Gestion locale de la diversité variétale du maïs (*Zeamays* L.) violet par les Tagouana au Centre-Nord de la Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 7(5):2058-2068.
- N'da HA, Akanvou L, Akanvou R, Zoro AIB. 2014. Évaluation de la diversité agromorphologique des accessions de maïs (*Zea mays* L.) collectées en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 2014. 20 (3) : 3144-3158.
- N'da HA, Akanvou L, Zoro AIB, Kouakou CK. 2015. Phenotypic diversity of farmer's traditional maize (*Zea mays* L) varieties in Côte d'Ivoire. *Maydica electronic publication* 60 ; M 13.
- N'da HA, Akanvou L, Pokou ND, Akanza KP, Kouakou CK and ZBI A. 2016. Genetic diversity and population structure of maize landraces from Côte d'Ivoire. *African Journal of Biotechnology* 15(44) : 2507-2516, DOI: 10.5897/AJB2016.15678.
- Hamrick JL & Godt JW. 1997. Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Science* 37 : 26-30.
- Harada K, Huan NV and Ueno H. 2009. Classification of Maize Landraces from Shikoku and Kyushu, Japan, Based on Phenotypic Characteristics. *JARQ* 43 (3) : 213-220.
- Hinze LL, Kresovich S, Nason JD and Lamkey KR. 2005. Population genetic diversity in a maize reciprocal recurrent selection program. *Crop Science* 45 : 2435-2443.
- Kim, HY; Lee, K.Y.; Kim, M.; Hong, M.; Deepa, P.; Kim, S. 2023. A Review of the Biological Properties of Purple Corn (*Zea mays* L.). *Sci. Pharm.*, 91, 6. <https://doi.org/10.3390/scipharm91010006>.
- Kouakou CK, akanvou L, konan YA and Mahyao A. 2010. Stratégies paysannes de maintien et de gestion de la biodiversité du maïs (*Zea mays* L.) dans le département de Katiola, Côte

- d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* 33: 2100 – 2109.
- López-Morales F, Taboada-Gaytán OR, Gil-Muñoz A, López PA and Reyes-López D. 2014. Morphological diversity of native maize in the humid tropics of Puebla, Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 17 : 19-31.
- Louette D & Smale M. 2000. Farmers' seed selection practices and traditional maize varieties in Cuzalapa, Mexico. *Euphytica* 113 : 25–41.
- Murariu M, Murariu D, Placinta DD, Leonte C, Simioniuc D-P, Leahu A and Avramiuc M. 2011. Evaluation of Romanian maize local landraces for increasing the efficiency of their use in breeding Programs. *Lucrări științifice* 54 (2) seria Agronomia : 77-83.
- Perrier X & Jacquemoud-Collet JP. 2006. DARWIN software. <http://darwin.cirad.fr/>.
- Romay MC, Ordás B, Revilla P and Ordás A. 2011. Three Cycles of Full-Sib Reciprocal Recurrent Selection in Two Spanish Maize Populations. *Crop Science* 51 : 1016-1022.
- Saitou N & Nei M 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.
- Salami HA, Adjanohoun A, Padonou W, Yacoubou A-M, Aly D, Yallou C, Sina H and Baba-Moussa L. 2015. Morphological diversity of corn's (*Zea mays* L.) local cultivar and improved varieties in central and north of Benin. *American Journal of Plant Sciences* 6 : 2867-2877.
- Shayanowako A.I.T., Shimelis H., M.D. Laing and L. Mwadzingeni. 2018. Genetic Diversity of Maize Genotypes with Variable Resistance to *Striga asiatica* Based on SSR Markers. *Cereal Research Communications* 46(4), pp. 668–678 (2018) DOI: 10.1556/0806.46.2018.044.
- Slatkin M (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 393-430.
- Taoyang C., Shangjie G-Z. and Mingbo S. 2023. Anthocyanins in metabolites of purple corn. *Front. Plant Sci.* 14:1154535. doi: 10.3389/fpls.2023.115453
- Yeh FC, Yang R & Boyle T 2000. POPGENE Version 1.32 software. Mise à jour de la version 1.31 de 1999. Disponible à l'adresse suivante : <https://sites.ualberta.ca/~fyeh/>.