

**T D M**  
TRAVAUX ET DOCUMENTS  
MICROFICHES

N° 118

F.3

**ÉVALUATION  
DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES  
DES RIZ CULTIVÉS EN AFRIQUE  
PAR HYBRIDATION  
INTRA- ET INTERSPÉCIFIQUE**

Jean-Louis  
PHAM

**CRISTOM**  
Éditions

ORSAY  
n° d'ordre:

UNIVERSITE DE PARIS-SUD  
CENTRE D'ORSAY

THESE

présentée  
pour obtenir

Le GRADE de DOCTEUR EN SCIENCES  
DE L'UNIVERSITE PARIS XI ORSAY

PAR

Jean-Louis PHAM

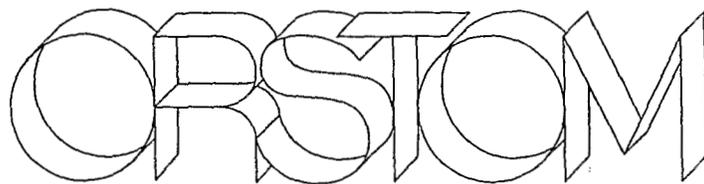
---

SUJET: **Evaluation des ressources génétiques des riz cultivés  
en Afrique par hybridation intra- et interspécifique.**

Soutenue le 11 décembre 1992 devant la Commission d'examen

MM.	SARR Aboubakry	Président
	CHARRIER André	
	GALLAIS André	
	HAMON Serge	Rapporteur
	JACQUOT Michel	Rapporteur

# TDM 118



**Editions de l'ORSTOM**

L'INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

***Collection :***

**Travaux et Documents Microédités**

**PARIS 1994**

**ISBN : 2-7099-1215-5**

© ORSTOM

**F 3**

«La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les «copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite» (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal.»

Les **remerciements** sont à un mémoire de thèse ce que Charles et Diana sont à Paris-Match. Indispensables. Dans les deux cas, c'est souvent la première rubrique lue, voire la seule. J'ose espérer que la comparaison s'arrêtera là.

André Gallais m'a accueilli dans sa station du Moulon, sans vraiment savoir ce que je venais y faire. J'y ai beaucoup appris, même si ça ne se voit pas forcément. Lui-même a fait quelques progrès en bureautique, laquelle ne s'accommode pas forcément de sa passion bouillonnante, plus propice aux débats scientifiques et aux présidences de jury (NDLR: en fait, c'est A.Sarr qui assura la présidence).

André Charrier manie avec dextérité l'art du non-dit. Dit ou non-dit, il m'a fait confiance à quelques moments cruciaux. C'est peu dire que je l'en remercie. Je suis ravi de l'accueillir dans mon jury, au risque de m'entendre dire, ou non-dire, quelques vérités dérangeantes.

Michel Jacquot me fait le plaisir d'être rapporteur de cette thèse. Se souvient-il qu'une des mes premières visites de jeune élève ORSTOM (parrainé par Gérard Second que je salue au passage) fut pour lui? Sa connaissance des riz et son expérience de sélectionneur m'intimident beaucoup. J'espère avoir l'occasion de les fréquenter davantage dans les années à venir si je reste oryzologue.

Serge Hamon m'a dit un jour qu'il n'avait pas d'affinité professionnelle pour les céréales. Je lui suis d'autant plus gré d'être rapporteur de cette thèse, sans vraiment espérer le convertir complètement. Ses responsabilités croissantes m'encouragent à persévérer.

Je suis très heureux qu'Abou Sarr soit membre de ce jury. Ses encouragements discrets mais efficaces ont fini par venir à bout de mes coupables indécisions. Je suis de ceux qui lui sont reconnaissants d'entretenir la flamme pernessienne avec fidélité mais sans mysticisme. A n'en pas douter, ses judicieuses remarques taperont dans le mil. (En fait, A. Sarr fut président du jury

Gilles Bezançon vint me chercher à l'aéroport lors de ma première arrivée à Abidjan. Ce soir là, l'Africa battait l'ASEC (ou l'inverse) dans la Coupe Houphouët-Boigny. Sa voiture (celle de Gilles, pas celle du Président) garda la trace d'un supporter déçu. Tout ça pour dire que Gilles a le sens du sacrifice, parfois un peu trop. Je lui dois néanmoins quelques sets perdus.

Alain Ghesquière aussi était à cette arrivée. Il n'a pas toujours bon caractère. Ça n'enlève rien à la sincérité de mes remerciements pour m'avoir mis sur les bons rails à mon arrivée sur le programme riz et pour ses conseils ultérieurs. Ses remarques ont contribué à la lisibilité de ce manuscrit.

Alexandre de Kochko et moi avons partagé quelques kilomètres de pistes ivoiriennes. Nous n'avons malheureusement pas eu le temps de profiter ensemble de ses talents de moléculiste. J'espère bien qu'on se rattrapera.

Michel Noirot est l'auteur des bugs de NDMS. Bugs ou bogues, il nous a sauvé du naufrage statistique à Adiopodoumé. Michel fait partie de ceux avec qui j'ai envie de travailler, encore qu'en réfléchissant, je me demande si c'est bien prudent.

Bruno Bougerol a subi avec abnégation mes espoirs en *Oryza glaberrima*. Après avoir raté son avion pour Abidjan, c'était la moindre des choses.

Merci à S.H. Zhang pour l'analyse RFLP de l'ADN chloroplastique de mes échantillons.

J'ai passé de belles années au Laboratoire de Génétique d'Adiopodoumé. Je m'y suis bien amusé avec, outre ceux déjà cités, F. Antony, B. Assiéan, M.F. Bosséno, M. Causse, J. Koechlin, F. Lefèvre, D. Le Pierrès et même R. Pasquet. Guela Bledy Felix et Boka Clément y furent les assistants consciencieux de notre laboratoire d'électrophorèse. La mise en place des essais, les notations sur les plantes n'auraient pas été possibles sans Fon Grarou Germain, Coulibaly Henri, Zagbre Francis, le service d'expérimentation agronomique et surtout Bessi Toba Gérard. Merci aussi à M. Coulibaly de la Station expérimentale de Toumbokro.

Jean-Christophe Glaszmann m'a supporté comme co-auteur. Ce n'est pas rien.

La conversation de Guy Clément, sélectionneur à l'IRAT, est toujours percutante, presque au sens propre: "Ces plantes là, ç'est peut-être bien pour faire de la génétique, mais çà ne peut servir à rien".

C'est aux SSC de Bondy que commença ma découverte de la planète ORSTOM. Jean-Charles Clément, Guy Billard, Jean Dejardin, Christian Mullon furent mes premiers extra-terrestres.

J'ai, au fil des conversations de café, de couloir, d'escalier, de colloque, d'aéroport, de champ,..., appris un tas de choses avec E. Guiderdoni et J.L. Notteghem du Cirad, D. de Vienne, P. Brabant, C. Dillmann, A. Charcosset, P. Garnier-Géré, N. Martin du Moulon, Kouamé Miézan et M. Chowdhury de l'ADRAO.

*Jacques David: T'as vu, là, t'as vu, t'as vu ? (douze pages défilent sur le terminal informatique en moins de 3,5 secondes)*

*JLP: ...*

*Jacques David: C'est bon, le F est à 1%, t'as vu, t'as vu? (Bis repetita)*

*JLP: ...*

Merci donc à Jacques de m'avoir initié à la gestion dynamique. Je ne regarderai jamais plus le pollen de la même façon.

Jeanne d'Arc de la sélection récurrente ou Lolita des Triticées, Isabelle Goldringer ignore à quel point son charme et sa fraîcheur furent un réconfort constant.

Judith Burstin partage dans la bonne humeur, géographiquement parlant, ma vie quotidienne au Moulon.

Marie-Marguerite Rolland assemble inlassablement (?) les pièces du puzzle moulonien. Pendant ce temps, Odette Thierry règle ses comptes avec entrain, tandis que Guy Decoux joue au Lucky Luke du Postscript.

Les Dr H.I. Oka, H. Morishima, Y. Sano ont tous eu un mot d'encouragement à mon égard. C'est comme si Darwin, Mendel et Fisher m'avaient tapé sur l'épaule.

Les occasions ne manquent pas au chercheur lambda de vitupérer contre ses structures d'encadrement. Il importe donc de ne pas rater celles, plus rares, de les remercier. Merci donc aux responsables du département MAA et de la Commission scientifique 4 de l'ORSTOM de m'avoir permis de travailler sereinement, au Ministère de la Recherche de Côte d'Ivoire de m'avoir donné l'occasion de venir à Adiopodoumé puis d'en repartir, à l'INRA enfin de son accueil à Gif/Yvette.

A celles et ceux que je n'ai pas cité(e)s, mille excuses. Je ne vous oublie pas.

Je n'oublie pas non plus que je ne serais pas généticien si mes études à Orsay ne m'avaient fait croiser Jean Pernès.

*Et bien sûr, merci encore,*

*à Marie-Hélène qui partage la vie parfois mouvementée d'un chercheur ORSTOM. On verra ensemble ce que l'avenir nous réserve.*

*à Florence, Rémi et Benjamin qui se sont appliqués avec constance à me changer les idées soir après soir. Il n'est pas sûr qu'ils aient toujours réussi à faire atterrir un papa parfois dans les nuages.*

*à mes parents. Je leur dois beaucoup, et pas seulement de garder de temps en temps avec stoïcisme les trois pirates déjà cités. Ma maman m'a par exemple appris à lire: ça m'a beaucoup servi.*



# TABLE DES MATIERES

Remerciements	3
Table des matières	7
Sigles, abréviations et conventions	11
<b>PREMIERE PARTIE</b>	
<b>I. INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>15</b>
A. Sources et ressources	15
B. Le riz, exemple de ressources génétiques	17
C. Le riz en Afrique	19
D. Objectifs et choix d'un matériel d'étude	24
1. Objectifs	24
2. Pourquoi échantillonner <i>O. sativa</i> ?	24
3. Pourquoi s'intéresser à <i>O. glaberrima</i> ?	25
4. Organisation du mémoire	27
<b>II. ORGANISATION DES RIZ CULTIVES: TENTATIVE DE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>29</b>
A. Les critères de classification chez <i>O. sativa</i>	29
1. Fertilité des hybrides F1	31
2. Caractères agromorphologiques	31
3. Marqueurs biochimiques et moléculaires	33
a) Isozymes	33
b) Autres marqueurs	34
4. Concordances entre classifications	35
B. Les barrières reproductives	37
1. Faiblesse F1	38
2. Faiblesse F2	38
3. Stérilité F1	38
a) Les modèles explicatifs	38
b) Les variétés à compatibilité large	39
4. Compétitions gamétophytiques	42
5. Conséquences pour les ségrégations	42
C. Groupes ou sous-espèces ?	43
D. L'organisation d' <i>O. glaberrima</i> et ses relations avec <i>O. sativa</i>	45
1. Variabilité d' <i>O. glaberrima</i>	45
2. Relations entre <i>O. sativa</i> et <i>O. glaberrima</i>	47
<b>III. MATERIELS ET METHODES</b>	<b>51</b>
A. Génotypes utilisés en croisement	51
1. Génotypes <i>O. sativa</i>	51
a) Origine	51
b) Variabilité biochimique et moléculaire	53
c) Description morphologique	54
d) Autres variétés utilisées	55
2. Génotypes <i>O. glaberrima</i>	55
B. Réalisation des croisements	57
C. Méthodes culturales	57
D. Caractères phénologiques et morphologiques	59
E. Fertilités	59

F. Marqueurs génétiques	61
1. Isozymes	61
2. Réaction au phénol	62
3. Autres marqueurs	62
G. Analyses statistiques	62
1. Méthodes générales	62
2. Analyse des ségrégations	63
a. Ségrégations F2	63
b. Ségrégations en rétrocroisements	63

## SECONDE PARTIE

<b>IV. INTRODUCTION A LA SECONDE PARTIE</b>	<b>67</b>
<b>V. LES HYBRIDES F1 ENTRE VARIETES D'O. SATIVA</b>	<b>69</b>
A. Protocole expérimental	70
B. Résultats	71
1. Réussite des croisements	71
2. Taux de germination et de reprise au repiquage	71
3. Fertilités paniculaires	73
a) Effet du sens de croisement	73
b) Profils spécifiques	73
4. Profils généraux	79
5. Caractères agromorphologiques	81
a) Méthodes	81
b) Résultats	83
C. Discussion	83
1. La dichotomie <i>indica/japonica</i> et la classification enzymatique	83
2. Les variétés à compatibilité large	85
<b>VI. LES HYBRIDES F1 INTERSPECIFIQUES ENTRE O. SATIVA ET O. GLABERRIMA</b>	<b>87</b>
A. BOUGEROL, B. & PHAM, J.L. (1989) Génome 32: 810-815	87
<b>VII. SEGREGATIONS DE MARQUEURS GENETIQUES DANS LES CROISEMENTS INTRA-O. SATIVA</b>	<b>95</b>
A. Protocole expérimental	96
B. Résultats	96
1. Ségrégations F2 monolocus	96
a) Croisements intra- <i>japonica</i>	96
b) Croisements intra- <i>indica</i>	97
c) Croisements <i>indica-japonica</i>	97
d) Croisements avec les variétés BS20 et YS309	101
e) En résumé	101
2. Le cas du chromosome 6	101
3. Relation entre la fertilité F1 et les distorsions	103
4. Descendances de rétrocroisements	103
5. Effets réciproques	105
6. Ségrégations bi-locus	105
C. Discussion	109
1. Principaux résultats	109
1. Importance quantitative et qualitative des distorsions	109
2. Excès systématique des allèles <i>indica</i> .	110
3. Maintien des allèles <i>japonica</i>	111
<b>VIII. SEGREGATIONS DANS LES RETROCROISEMENTS ENTRE O. SATIVA ET O. GLABERRIMA</b>	<b>113</b>

<b>VIII. SEGREGATIONS DANS LES RETROCROISEMENTS ENTRE <i>O. SATIVA</i> ET <i>O. GLABERRIMA</i></b>	<b>113</b>
A. Protocole expérimental	114
B. Résultats	115
1. Développement des plantes	115
2. Ségrégations de marqueurs génétiques	117
C. Discussion	119
1. Rappel des résultats	119
2. Analyse des distorsions	119
 <b>IX. DISCUSSION DE LA SECONDE PARTIE</b>	 <b>125</b>
A. Concordance entre classifications d' <i>O. sativa</i>	126
B. Compatibilité hybride	127
C. Variabilité cytoplasmique	129
D. <i>O. glaberrima</i> , révélateur de variabilité	131
 <b>TROISIEME PARTIE</b>	
 <b>X. INTRODUCTION A LA TROISIEME PARTIE</b>	 <b>135</b>
 <b>XI. RECHERCHE DE MARQUEURS GENETIQUES DE CARACTERES AGROMORPHOLOGIQUES</b>	 <b>137</b>
A. Introduction	127
B. Protocole experimental	139
1. Descendances étudiées	139
3. Méthodologie	141
a) Principe	141
b) Remarques	141
C. Résultats	145
1. Identification de marqueurs génétiques de caractères quantitatifs.	145
2. Effets des QTLs	149
3. Interactions entre locus	153
4. Marqueurs et corrélations	157
D. Discussion	157
1. Nombre de QTLs détectés	157
2. Interactions entre locus	157
3. Répartition des QTLs dans le génome	157
a) Comparaison avec la carte génétique d' <i>O. sativa</i> et les résultats antérieurs.	157
b) Nombre de QTLs et distribution dans le génome	158
c) "Syndrome de domestication"	158
4. Une petite expérience	159
a) Dispositif expérimental	159
b) Résultats	161
 <b>XII. EVOLUTION DE LA VARIABILITE DANS LA DESCENDANCE D'UN CROISEMENT <i>JAPONICA</i> / <i>INDICA</i></b>	 <b>163</b>
A. Descendance F2	165
1. Ségrégations de marqueurs.	165
2. Caractères agromorphologiques	165
B. Descendance F3	169
1. Protocole expérimental	169
2. Résultats	171
a) Description générale	171
b) Fertilité et structure paniculaire	173

c) Interprétation des valeurs moyennes F3 en fonction des génotypes F2 aux locus marqueurs	175
d) Variation des familles F3	175
C. Résumé	179
<b>XII. VARIABILITE DE DESCENDANCES DE RETROCROISEMENTS INTERSPECIFIQUES</b>	<b>181</b>
A. Résultats	181
1. Caractères agromorphologiques	181
a) Description des variétés parentales et des hybrides F1	181
b) Descendances	183
2. Fertilité	187
B. Discussion	191
a) Fertilités	191
b) Variabilité agromorphologique	191
<b>XV. DISCUSSION DE LA TROISIEME PARTIE</b>	<b>193</b>
A. Fertilité	193
B. Points chauds	194
<b>QUATRIEME PARTIE</b>	
<b>XVI. DISCUSSION GENERALE</b>	<b>199</b>
A. Ressources génétiques et QTLs	199
1. Evaluation du polymorphisme des QTLs	200
2. Des QTLs: lesquels?	203
4. Choix des caractères à étudier	203
5. Core Collection	205
B. Valorisation des ressources génétiques	205
1. Inter ou Intraspécifique	206
2. Faut-il désespérer d' <i>O. glaberrima</i> ?	206
3. Eléments pour une gestion dynamique des ressources génétiques des riz cultivés	208
<b>EPILOGUE</b>	<b>215</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>217</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>237</b>
A. Annexe 1: Taxonomie des riz	239
B. Annexe 2: Article Génome 1990 sur les isozymes	241

## Sigles, abréviations et conventions

La signification des sigles et abréviations est le plus souvent donnée lors de leur première apparition dans le texte. Un récapitulatif est proposé ci-dessous.

### Sigles

ADRAO	Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest (en anglais WARDA: West Africa Rice Development Association), (Bouaké, Côte d'Ivoire)
CIRAD	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (Paris, France)
IBPGR	International Board for Plant Genetic Resources (Rome, Italie)
IIRSDA	Institut International de Recherche Scientifique pour le Développement à Adiopodoumé (Abidjan, Côte d'Ivoire)
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique (Paris, France)
IRAT	Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des Cultures Vivrières (Nogent-sur-Marne, France)
IRRI	International Rice Research Institute (Manille, Philippines)
NIG	National Institute of Genetics (Misima, Japon)
ORSTOM	L'Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (Paris, France)
UPS	Université Paris Sud (France)

### Abréviations

ACP	Analyse en composantes principales
AFC	Analyse factorielle des correspondances
CAH	Classification ascendante hiérarchique
QTL	Quantitative trait locus (on écrira des QTLs)
RFLP	Restriction fragments length polymorphism
WCV	Wide compatibility variety

### Conventions

Par commodité, on parlera de technique RFLP pour la technique de révélation du RFLP, de marqueurs RFLP, de polymorphisme RFLP.

On utilisera la convention IRRI pour désigner les croisements. Les plantes issues du croisement des génotypes V1 (femelle) par V2 (mâle) sont des hybrides F1 notés V1/V2. Le croisement de l'hybride F1 V1/V2 (femelle) par le génotype V3 (mâle) est noté V1/V2//V3. Le croisement réciproque est noté V3/(V1/V2).

Par autofécondations successives, on obtient la génération F2 à partir de l'hybride F1, la F3 à partir de la F2 ...



**PREMIERE PARTIE**

**Introduction générale**

**Synthèse bibliographique sur les riz cultivés**

**Matériels et méthodes**



# Chapitre I.

## INTRODUCTION GENERALE

### A. SOURCES ET RESSOURCES

A défaut d'un consensus sur les moyens et méthodes à mettre en oeuvre, la nécessité de la préservation des ressources phytogénétiques est aujourd'hui largement admise par les acteurs de l'amélioration des plantes. Ceux-ci, après avoir parfois précédé l'opinion, se retrouvent maintenant en phase avec les préoccupations plus générales des citoyens quant à la protection de l'environnement ou celles de la communauté scientifique sur la "biodiversité".

La période 1850-1950 fut celle des pionniers des ressources génétiques (Cohen et al. 1991), dont Vavilov est la figure emblématique. Les années 60-80 auront vu la constitution méthodique des grandes collections par genre. Les années 90 seront, sont déjà, celles des interrogations sur la gestion des collections. C'est aujourd'hui un lieu commun, toujours bon à rappeler, d'écrire qu'il ne s'agit pas seulement de prospecter, collecter, amasser de gigantesques collections de génotypes. Cette phase de collecte, nécessaire, souvent très riche en enseignements, facilement valorisante par les bilans chiffrés qui en découlent, et perpétuant parfois l'image du savant explorateur accumulant (enfouissant ?) son butin dans des sous-sols poussiéreux ou de rutilantes chambres froides, ne peut être considérée comme une fin en soi. Si richesse il y a, encore convient-il de savoir où elle se trouve, comment y accéder, comment l'utiliser (Pernès 1984). L'objectif ultime de la gestion de ces collections de ressources génétiques est en effet intrinsèquement utilitaire puisqu'il est de faire de ces banques de gènes/génotypes la meilleure source possible de variabilité génétique pour l'amélioration variétale tant d'aujourd'hui que de demain. On notera ici que l'esprit dans lequel sont gérées ces grandes collections (maïs, blé, riz, mil...) est assez éloigné de celui, plus culturel, esthétique voire

éthique, qui prévaut pour cet autre aspect des ressources génétiques que sont les conservatoires botaniques ou les parcs naturels.

L'objectif de valorisation des collections ne peut être atteint que si les collections sont décrites, évaluées pour permettre aux utilisateurs potentiels de choisir les génotypes *a priori* intéressants. Se pose alors le problème des critères de description, d'évaluation, des indicateurs à mettre à la disposition des sélectionneurs. Si on admet que l'on peut décrire sans trop de problèmes, quoiqu'imparfaitement, une accession par des caractéristiques morphologiques, phénologiques, agronomiques, ou par des descripteurs biochimiques et moléculaires (plus universels par leur moindre sensibilité aux variations environnementales), il reste au moins deux problèmes importants dont le premier se rapporte à la masse des informations à traiter. On conçoit en effet que la gestion d'un grand nombre de génotypes ne peut s'accommoder de la simple juxtaposition des informations et que des descripteurs synthétiques, des classifications sont nécessaires. Le second problème concerne la signification biologique des descripteurs ou des classifications utilisés. Le développement des techniques de marquage du génome, et les tentatives qui en découlent pour relier la variabilité moléculaire à la variabilité phénotypique, vont sans doute poser le problème avec de plus en plus d'acuité.

Soulignons également qu'un des points les plus délicats de la gestion des ressources génétiques concerne la réjuvenation et la survie des collections puisque même dans les cas favorables où 40 ans de tranquillité sont assurés par des congélateurs, se posent cependant tôt ou tard les questions: Que conserver? Comment? La réponse, ou plutôt une réponse ne peut être élaborée qu'à partir d'une évaluation correcte des collections. Donnons en deux exemples, moins différents qu'il n'y paraît au premier abord:

- Daugherty et al. (1990) montrent que le non-respect de règles taxinomiques lors de la politique de conservation a conduit en Nouvelle-Zélande à l'extinction présumée de la sous-espèce de tuatara *Sphenodon punctatus reischeki*.
- La définition d'une *core collection* (Frankel 1984), c'est à dire d'une collection de base représentant environ 10% des accessions et 80% de la variabilité totale de la collection, ne peut se concevoir de manière efficace en l'absence de toute référence à l'organisation de la variabilité (Frankel et Brown 1984, Brown 1989).

Ces problèmes de description des collections s'appliquent classiquement à la conservation "statique" qui est la conservation des géotypes sous une forme figée, le plus souvent sous forme de grains pour les céréales. La sérénité évoquée plus haut quant à ce type de conservation est troublée par deux incertitudes au moins: l'intégrité des géotypes sera-t-elle préservée (voir Levin 1990 pour une vision optimiste des effets éventuels de la conservation comme générateur de variabilité) ? Des géotypes déconnectés de leur environnement pendant des temps non négligeables sont-ils encore intéressants (Pernès 1984)?

La conservation dite "dynamique" a pour objectif majeur d'éviter cette déconnexion. On dispose pour l'instant de peu d'éléments théoriques dans la mesure où les rares et méritoires tentatives de conservation dynamique ont toutes un caractère prospectif (Allard 1988, 1992, Henry et al. 1991). Toutefois, on devine (David 1992) qu'elle ne se substituera pas à la gestion statique, mais lui sera complémentaire et que se posera une fois de plus la question du choix: quels géotypes placer en gestion dynamique ?

L'évocation de la conservation dynamique nous permet d'introduire l'étude des barrières reproductives comme composante de l'évaluation des ressources génétiques. L'évolution de populations en milieu variable dépendra, parmi d'autres facteurs, des écarts à un mode de reproduction théorique, sous l'influence par exemple de sélection zygotique ou gamétique. On retrouve ici une préoccupation qui n'est pas étrangère aux sélectionneurs. Plus en amont, la notion de barrières reproductives a conduit Harlan et de Wet (1971) à la définition des pools primaire, secondaire et tertiaire d'une espèce cultivée, chacun de ces pools se caractérisant par un niveau croissant de difficulté de brassage génétique.

## **B. LE RIZ, EXEMPLE DE RESSOURCES GENETIQUES**

Les ressources génétiques du riz, Graminée monocotylédone de la tribu des Oryzées (Annexe 1), fournissent une excellente illustration de ces problèmes de gestion et d'utilisation qui concernent l'ensemble des collections de géotypes végétaux. Bien que nous évoquions tout au long de ce mémoire essentiellement des espèces préférentiellement autogames et annuelles, on relèvera la présence dans ces ressources génétiques d'espèces allogames et pérennes.

La fantastique diversité des riz sauvages et cultivés, leur très grande dispersion géographique, l'intérêt porté à cette céréale du fait de son importance

**Tableau 1.**

Collections de riz sauvages et cultivés conservées en 1989 à l'International Rice Germplasm Center de l'IRRI (Chang 1989).

	Nombre d'accessions
<i>O. sativa</i>	77061
<i>O. glaberrima</i>	2412
Riz sauvages	2297
Testeurs et mutants	995
Non encore enregistrées	2518
<b>Total</b>	<b>85283</b>

socio-économique font que les ressources collectées de riz sont énormes. L'IRRI<sup>1</sup>, à qui est confié le mandat international pour leur conservation, déclarait en 1989 plus de 85 000 accessions (Tableau 1).

Au risque d'un sous-emploi dommageable des ressources collectées, la gestion de ces énormes potentialités ordonne l'existence d'une évaluation, même imparfaite, afin de les transformer en véritables disponibilités. Le constat par Lin (1991) et Dilday (1990) de l'étroitesse de la base génétique des variétés récentes à Taïwan et aux Etats-Unis confirme le bien-fondé de la démarche.

La valorisation des ressources génétiques des riz cultivés est par ailleurs freinée par l'existence de barrières reproductives se manifestant lors de croisements intervariétaux, à l'intérieur même d'*Oryza sativa*, principale espèce cultivée, et plus fortement encore lors de confrontation entre les deux espèces cultivées *O. sativa* et *O. glaberrima*. Paradoxalement, l'utilisation d'espèces du genre *Oryza* appartenant à des groupes génomiques différents d'*O. sativa* semble aujourd'hui plus en vogue que les croisements distants à l'intérieur du génome AA.

Les travaux présentés dans ce mémoire sont une contribution à la connaissance des ressources génétiques des riz cultivés en Afrique. Ils ont été réalisés en Côte d'Ivoire, au Laboratoire de Génétique du centre ORSTOM<sup>2</sup> d'Adiopodoumé (devenu IIRSDA<sup>3</sup> en octobre 1988), situé à proximité d'Abidjan. L'analyse des résultats et la rédaction de ce mémoire ont été poursuivies à la Station de génétique végétale de la Ferme du Moulon (INRA-UPS) à Gif/Yvette (France). Avant de préciser les objectifs de cette étude, il est nécessaire d'introduire quelques brèves données sur la riziculture et les riz d'Afrique.

## C. LE RIZ EN AFRIQUE

L'image du riz est étroitement associée à celle de l'Asie. Cette céréale est pourtant cultivée sur les 5 continents. L'Afrique, dans sa partie sub-saharienne, est une terre de riziculture et aussi, en certaines régions, de traditions rizicoles. L'espèce asiatique *Oryza sativa* L. fut notamment introduite vers le 15<sup>ème</sup> siècle par les Portugais en Afrique de l'Ouest où sa culture a connu une extension rapide et importante. De plus, l'Afrique de l'Ouest est à la fois région d'origine et de culture exclusive de la seule autre espèce cultivée, *O. glaberrima* Steud.

<sup>1</sup> IRRI: International Rice Research Institute.

<sup>2</sup> ORSTOM: L'Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération.

<sup>3</sup> IIRSDA: Institut International de Recherche Scientifique pour le Développement à Adiopodoumé.

**Tableau 2.**

Quelques données sur la riziculture mondiale.

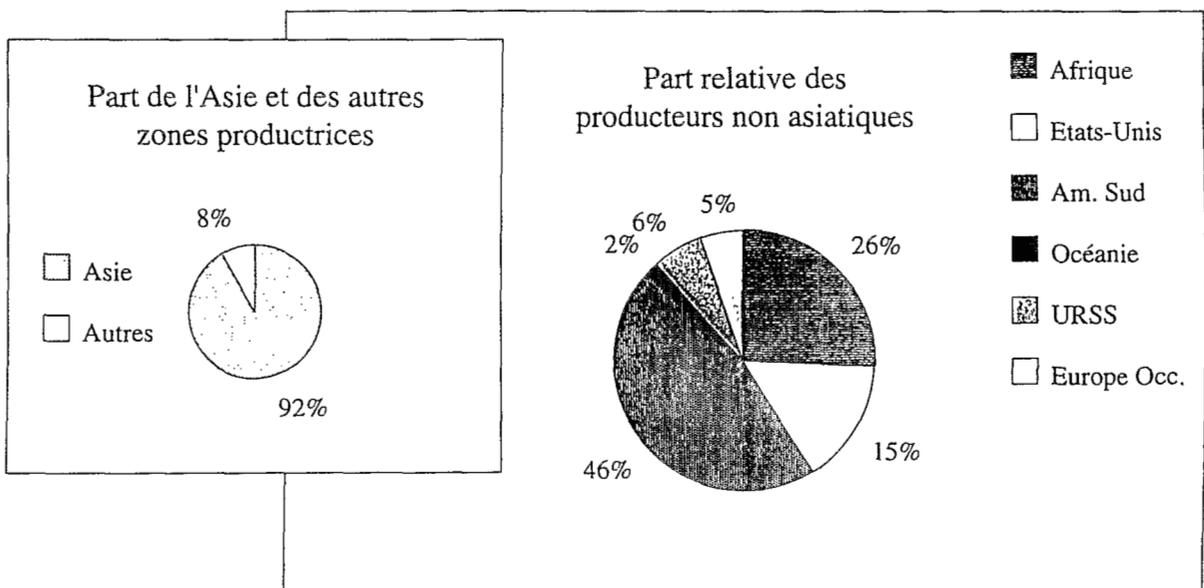
Sources: Rice facts 1988 (IRRI), sauf (\*): Annuaire de la FAO 1985.

	Surface rizicole (milliers ha)	Rendement (t/ha)	Production (milliers t)	% production mondiale
Asie	129500	3.30	429000	91.70
Afrique	5400	1.90	10000	2.14
.....Côte d'Ivoire		1.30	530	0.11
Etats-Unis	970	6.20	6000	1.28
Amérique latine	7600	2.30	17700	3.78
Océanie*	124	5.30	660	0.14
URSS*	690	3.60	2500	0.53
Europe*	378	5.20	1960	0.42
.....France*	9	4.70	42	0.01

**Figure 1.**

Production de riz relative des différents continents.

Sources identiques à celles du Tableau 2.



La part du riz dans l'alimentation quotidienne des Africains de la zone tropicale est en augmentation constante, notamment dans les centres urbains. La place modeste de l'Afrique dans la production mondiale de riz (Tableau 2 et Figure 1) ne doit pas masquer que la recherche rizicole africaine recouvre un enjeu économique important. A titre d'exemple, la Côte d'Ivoire a importé en 1986 361000 tonnes de riz blanchi, soit plus de la moitié de sa consommation intérieure, représentant en valeur 49 % des produits agricoles bruts et transformés et 3 % des importations totales de biens (source: Ministère de l'Agriculture de Côte d'Ivoire, 1986). Cette situation est à comparer à celle du maïs, première céréale par les surfaces cultivées et pour laquelle la Côte d'Ivoire est quasiment autosuffisante. Les projections à l'an 2000 estiment à 40% seulement le taux de couverture (production/consommation) en riz pour ce pays. Au Burkina Faso, ce taux de couverture est passé de 86% en 1974 à 40% en 1982 (Sié 1989).

Ces chiffres démontrent la nécessité d'une recherche rizicole en Afrique. Parmi l'ensemble des facteurs pouvant contribuer à l'augmentation de la production (amélioration des techniques culturales, encadrement, soutien à la production nationale, ...) figure l'obtention de variétés plus performantes.

Les programmes d'amélioration variétale des organismes de recherche nationaux ou internationaux comme l'ADRAO<sup>4</sup> s'appuient sur un matériel avancé, descendances de croisements ou lignées, tel celui fourni dans le cadre du réseau de l'IRRI, ou intègrent des variétés issues des collections de variétés africaines.

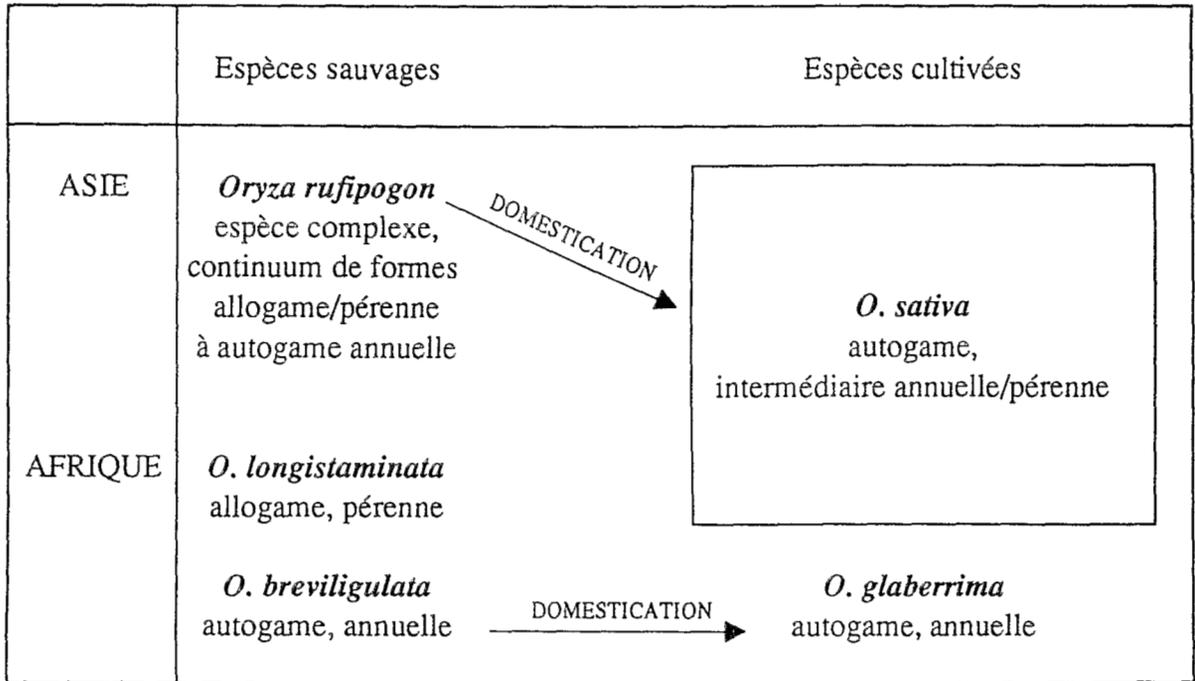
Ces collections sont le fruit des efforts déployés depuis une vingtaine d'années, souvent sous l'égide de l'IBPGR<sup>5</sup>, pour sauvegarder la richesse des riz d'Afrique, tant cultivés traditionnels que sauvages, menacée par le bouleversement des écosystèmes. La diffusion des génotypes issus de l'amélioration variétale, en marge de ses indéniables avantages, ne fut pas sans dommage pour les variétés traditionnelles, comme en témoigne cet extrait de publication de 1969 présentant un projet de programme de vulgarisation rizicole en Haute-Volta, aujourd'hui Burkina-Faso: "Il faut, dans toute cette région, accélérer l'élimination, déjà bien avancée, nous l'avons vu, des variétés d'*O. glaberrima* à grains rouges. Pour ce faire, la diffusion de semences de variétés d'*O. sativa* à grains blancs doit être un thème primordial de vulgarisation."

---

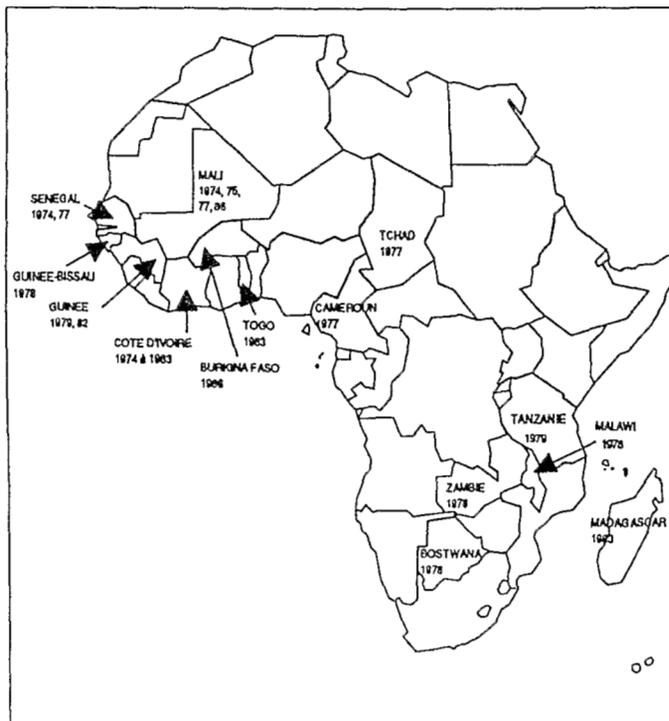
<sup>4</sup> ADRAO: Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest.

<sup>5</sup> IBPGR: International Board for Plant Genetic Resources.

**Figure 2.**  
Le groupe *Sativa* (génome AA, 2n=24)



**Figure 3.**  
Prospections de riz sauvages et cultivés menées en Afrique  
et à Madagascar par l'IRAT et l'ORSTOM depuis 1974.



Le Laboratoire de Génétique de l'ORSTOM fut partie prenante de cet effort de sauvegarde et participa, dès que commença en 1974 son programme sur les ressources génétiques des riz d'Afrique (groupe *Sativa*, Figure 2), à une série de prospections sur tout le continent africain (Figure 3), le plus souvent en collaboration avec l'IRAT<sup>6</sup> et le soutien de l'IBPGR. Une très importante quantité de matériel fut ainsi collectée et mise en conservation. A Adiopodoumé, en Côte d'Ivoire, ce matériel a servi de base à plusieurs thèmes de recherche (Bezançon et al. 1989).

La diversité génétique des 2 espèces cultivées *Oryza sativa* (Second 1982; Ghesquière et Second 1983; de Kochko 1987, 1988) et *O. glaberrima* et des 2 principales espèces sauvages *O. breviligulata* (Bezançon et al. 1977, Second 1985a, 1985b) et *O. longistaminata* (Ghesquière 1988) fut évaluée, étude rendue possible par la mise au point d'une méthode d'électrophorèse d'enzymes sur gel d'amidon (Trousnot et Second 1980). Une extension de cette étude à une collection mondiale de riz servit de base à l'élaboration d'un scénario de l'évolution des riz (Second 1985a, 1985b), appuyé ultérieurement par l'étude du génome chloroplastique (Dally 1988, Dally et Second 1990).

L'étude du complexe des riz annuels africains *O. breviligulata* et *O. glaberrima* a permis une approche du phénomène de domestication (Bezançon, en préparation).

*O. longistaminata*, espèce pérenne et allogame, a été décrite pour sa biologie et ses relations avec les autres espèces (Ghesquière 1988). Son utilisation pour des schémas originaux d'amélioration d'*O. sativa* a été envisagée (Causse 1989, Causse et Ghesquière 1991). Ces études ont trouvé une ouverture intéressante avec l'utilisation d'*O. longistaminata* pour développer la carte RFLP du riz (Tanksley et al. 1991, McCouch et Tanksley 1991, Causse et al. en préparation).

Nombre des résultats acquis seront évoqués dans la suite de ce mémoire. N'extrayons dans cette introduction que les principales conclusions issues de l'analyse de la diversité d'*Oryza sativa* en Afrique:

- La variabilité d'*O. sativa* est de même importance en Afrique que sur son continent d'origine.
- Elle se structure en deux grands groupes correspondant aux sous-espèces *indica* et *japonica*.

---

<sup>6</sup> IRAT: Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et des cultures vivrières.

- Il existe chez *O. sativa* des traces d'introgression par *O. longistaminata*. Par "trace d'introgression", on entend ici présence parmi tous les allèles isozymiques décrivant la variété d'*O. sativa* d'un ou plusieurs allèles considérés comme caractéristiques d'une autre espèce. Il n'est évidemment pas possible d'affirmer avec certitude que ces allèles proviennent d'une hybridation interspécifique.

## D. OBJECTIFS ET CHOIX D'UN MATERIEL D'ETUDE

### 1. Objectifs

Si la diversité isozymique d' *Oryza sativa* en Afrique peut être considérée comme décrite, les relations intervariétales ont fait l'objet de peu de recherches. Les relations d'*O. sativa*, et notamment de variétés africaines, avec *O. glaberrima* n'ont également été que peu étudiées en terme de variabilité génétique.

Ce mémoire présente les résultats relatifs à l'organisation génétique d'*O. sativa* en Afrique, approchée par l'étude des barrières reproductives existant entre variétés africaines d'*O. sativa* d'une part, entre ces variétés et *O. glaberrima* d'autre part. L'utilisation de marqueurs biochimiques (isozymes) nous conduira à nous interroger sur la signification des classifications issues de ce type de marqueurs.

Les conséquences des barrières reproductives dans l'utilisation de croisements distants en amélioration variétale seront ensuite envisagées, plus particulièrement au regard des relations mises en évidence entre marqueurs génétiques et caractères agromorphologiques.

### 2. Pourquoi échantillonner *O. sativa* ?

Il n'est pas envisageable d'étudier la diversité d'*O. sativa* pour ces barrières reproductives avec des échantillons de variétés d'effectifs comparables à ceux utilisés pour l'analyse de la diversité enzymatique. Aussi l'option a-t-elle été prise d'envisager cette étude à partir d'un échantillon restreint de variétés, et d'essayer de dégager une vue cohérente des relations génétiques entre ces variétés.

Douze variétés d'*O. sativa* ont ainsi été choisies pour représenter une partie de la variabilité de l'espèce. Il va de soi qu'on ne peut prétendre représenter ainsi toute cette diversité. La variabilité génétique ne saurait être réduite à la diversité enzymatique et, même si cela était, la diversité enzymatique d'*O. sativa* en Afrique,

voisine de celle observée en Asie, ne pourrait se condenser en 12 variétés. Les limites de cette étude apparaissent d'emblée. Lorsque nous parlerons de classification, il s'agira de classer notre échantillon, non *Oryza sativa*. La descendance d'un croisement entre sous-espèces sera étudiée comme la descendance d'un croisement, non comme représentant de tous les croisements intersubspécifiques. Ces restrictions étant faites, elles ne nous empêcheront évidemment pas de chercher à replacer les résultats obtenus dans un contexte plus général.

### 3. Pourquoi s'intéresser à *O. glaberrima* ?

A notre connaissance, aucune variété améliorée d'*Oryza sativa* ne peut se prévaloir d'une base génétique incluant l'espèce cultivée spécifiquement africaine *O. glaberrima*. Il y a au moins deux raisons à cela:

- La forte stérilité des premières générations rend extrêmement fastidieuse la manipulation d'hybrides entre ces deux espèces.

- L'intérêt agronomique d'*O. glaberrima* est faible (Jacquot et al. 1992). L'origine différente d'*O. glaberrima* est donc de fait le principal argument pour affirmer que l'espèce africaine est une source potentielle d'amélioration pour *O. sativa*.

La bibliographie montre que peu de travaux ont été consacrés au problème des échanges génétiques entre les 2 espèces cultivées, et que la variabilité génétique des 2 espèces n'a été que peu prise en compte dans ces études. La variabilité d'*O. glaberrima* étant relativement faible (Second 1982, 1985a), il semblait intéressant d'étudier l'influence du géniteur *O. sativa* sur les descendes de croisements avec *O. glaberrima*, cette approche se situant alors parfaitement dans le cadre de notre étude sur la diversité d'*O. sativa*. L'utilisation d'*O. glaberrima* offrait alors la possibilité de confronter un troisième pool cultivé aux deux pools géniques que constituent les ensembles *indica* et *japonica*.

Enfin, et parce que ce travail s'inscrit dans un programme plus vaste ayant son histoire, rappelons que le programme "Ressources Génétiques des Riz d'Afrique" fut initié sur l'idée de sauvegarder et valoriser *O. glaberrima* (Pernès, non daté).

**Tableau 3.**

Synthèse des expériences présentées dans le mémoire.

		<i>12 variétés d'Oryza sativa</i>	
		<i>Parent constant O.glaberrima</i>	<i>Croisements intra-O.satva</i>
Organisation de la variabilité	<i>Fertilité</i> <i>Morphologie</i>	Hybrides F1	Hybrides F1
Evolution de la variabilité	<i>Ségrégations</i>	4 descendances BC	35 descendances F2
Relations marqueurs/caractères	<i>Fertilités</i>		3 descendances F2
	<i>Morphologie</i>		2 descendances F3

#### 4. Organisation du mémoire

Dans une première partie, la présente introduction sera suivie d'une présentation au sens large du matériel. Au sens large car une partie de ce travail se situant autour de l'aspect quasi incontournable de la génétique des riz cultivés qu'est la distinction *indica-japonica*, il était indispensable de précéder la présentation des variétés impliquées dans ce travail d'une brève synthèse sur l'organisation de l'espèce *O. sativa* à travers cette distinction. Un complément bibliographique sera également consacré à l'organisation d'*O. glaberrima*<sup>7</sup>. Les méthodes utilisées seront ensuite présentées.

Un résumé des expérimentations est proposé dans le Tableau 3. Les résultats de ces essais alimentent les seconde et troisième parties de ce mémoire.

La seconde partie portera sur la diversité des relations intervariétales et comprendra 4 chapitres. Le premier sera consacré à l'étude des hybrides F1 intra-*O. sativa* (chapitre V), le second aux hybrides F1 entre *O. sativa* et *O. glaberrima* (chapitre VI). Les chapitres suivants sont consacrés à l'étude de ségrégations de marqueurs génétiques tout d'abord dans de nombreuses descendance de croisements intra-*O. sativa* (chapitre VII) puis dans quatre descendance de rétrocroisements entre *O. glaberrima* et *O. sativa* (chapitre VIII). L'importance et l'origine des distorsions de ségrégations observées dans certains cas sera discutée et nous conduira aux questions posées dans la partie suivante.

Cette troisième partie traitera des conséquences des barrières reproductives intra-*O. sativa* sur la variabilité disponible dans les générations successives (Chapitre XII), notamment à travers l'étude des relations entre marqueurs génétiques et caractères morphologiques dans une descendance de croisement intersubspécifique (Chapitre XI). La variabilité des descendance de rétrocroisements entre les deux espèces cultivées sera étudiée dans le Chapitre XIII.

La discussion générale et la conclusion tenteront enfin de dégager la synthèse et les conséquences de l'ensemble de ce travail.

Nous avons tenté de ménager 3 niveaux de discussion au cours de ce mémoire. Le premier clôt chaque chapitre de résultats; il reprend les principaux résultats et en donne une interprétation étroite. Le second niveau apparaît à la fin de chacune des deux parties de résultats; il essaie de montrer la cohérence des résultats

---

<sup>7</sup> Les parties bibliographiques ont généralement l'inconvénient d'engendrer quelques répétitions lors de la discussion de résultats. Je n'ai pas trouvé le moyen d'y échapper.

obtenus dans chacun des chapitres. La discussion générale tentera de justifier son qualificatif.

## **Chapitre II.**

# **ORGANISATION DES RIZ CULTIVES: TENTATIVE DE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

L'importance relative des zones de culture des 2 espèces cultivées *O. sativa* et *O. glaberrima* (Photos 1 et 2) est disproportionnée. Alors que *O. glaberrima* n'est cultivée qu'en Afrique de l'Ouest, on peut trouver *O. sativa* cultivée sous des latitudes aussi distantes que le sud de l'URSS ou le centre de l'Argentine (Clément 1987). Cet écart se retrouve au niveau de la variabilité des deux espèces et aussi à celui du nombre de travaux qui leur ont été consacrés.

La très grande variabilité d'*O. sativa* et les barrières reproductives se manifestant à l'intérieur même de l'espèce, ont suggéré l'utilité de classifications intraspécifiques. C'est sur ce point que sera axée la présentation bibliographique de l'espèce. Nous présenterons *O. glaberrima* de façon plus générale, en abordant ses relations avec l'autre espèce cultivée.

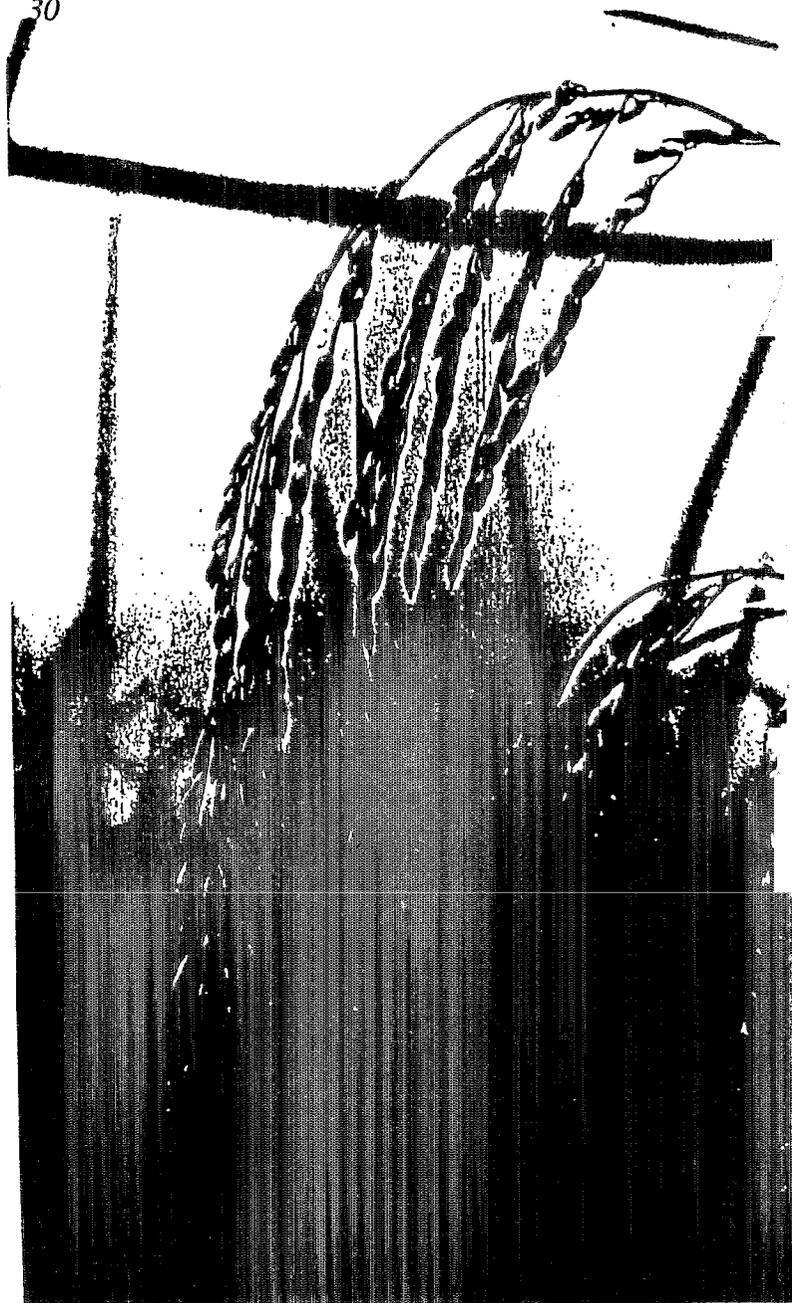
### **A. LES CRITERES DE CLASSIFICATION CHEZ *O. SATIVA***

Portères (1956) dresse un historique érudit de la taxonomie d'*O. sativa*, de l'Antiquité au XX<sup>ème</sup> siècle, de Théophrasus et Horace à Vavilov en passant par Hieronimus Tragus et Linné, et fait du généticien japonais Kato (vers 1930) l'artisan de la classification moderne, ce dernier regroupant sous deux entités seulement la multitude de subdivisions créées pour rendre compte de la diversité d'*O. sativa*.

Le débat ne s'est cependant pas arrêté avec Kato. La classification variétale d'*O. sativa* est un sujet largement débattu par les généticiens du riz depuis plus d'un demi-siècle, comme en témoigne la diversité des termes employés pour désigner les

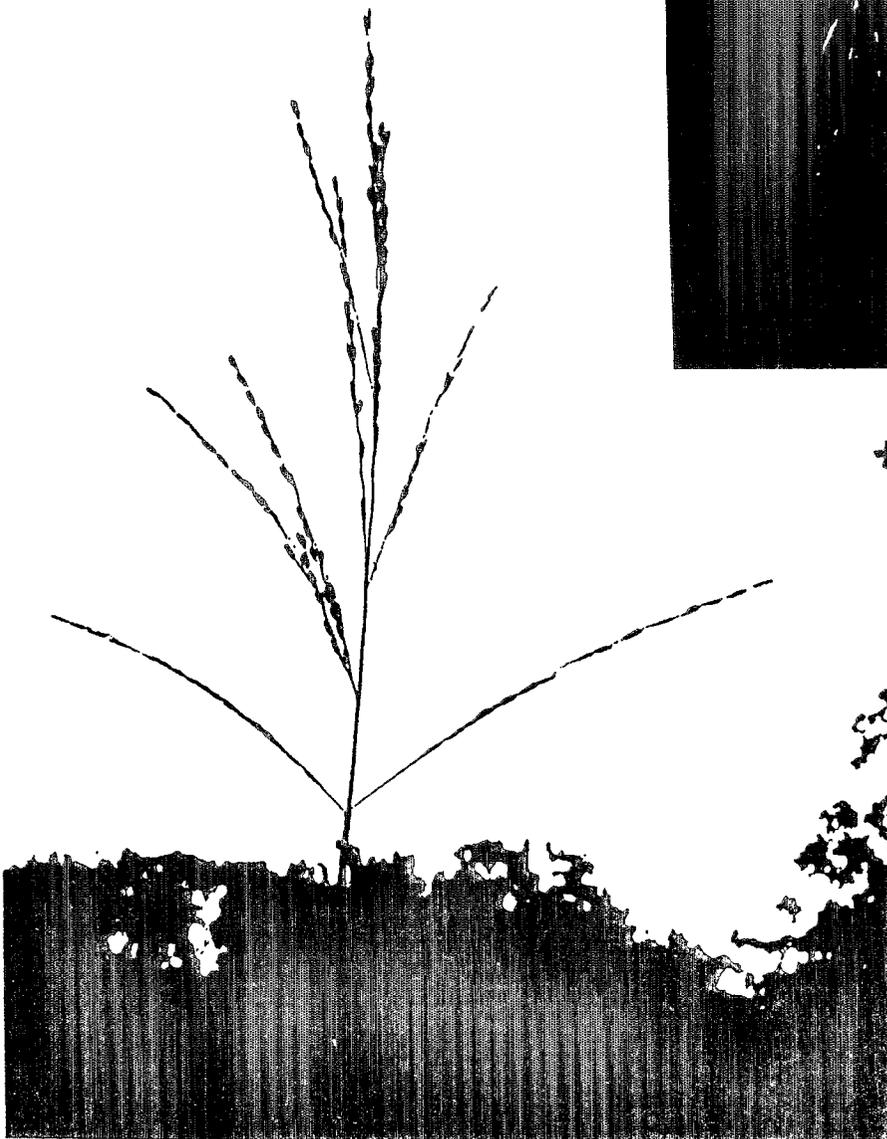
**Photo 1.**

Panicule de l'espèce *Oryza sativa*  
à maturité.



**Photo 2.**

Panicule de l'espèce *Oryza glaberrima*  
à maturité. Son port est dressé, contrairement  
à celui incliné d'*O. sativa*.



différentes partitions supposées: groupe, type, écotype, forme, race, souche, ensemble, sous-espèce...

On essaiera ici de rappeler quelques uns des termes de ce débat en tentant en particulier de dégager les résultats ayant réellement permis une progression des idées de ceux qui n'ont fait que confirmer ou étayer les classifications établies. Oka (1988) rappelle à ce propos qu'il faut distinguer deux aspects de la classification (des riz): Existe-t-il des groupes ? Comment discriminer ces groupes ?

### 1. Fertilité des hybrides F1

Les premières études scientifiques (Kato 1930) se fondent sur l'observation de stérilités d'hybrides F1 intervariétaux. Kato définit alors deux sous-espèces qu'il appelle *indica* et *japonica* en raison de leur origine géographique présumée. Cette dichotomie est valablement remise en cause par Terao et Midusima (1939) qui identifient des variétés dont le comportement en croisement est atypique par rapport à ceux décrits par Kato. Cette observation sera confirmée par Morinaga et Kuryama (1958). L'analyse des fertilités polliniques de nombreux hybrides F1 conduit ensuite Oka (1958, 1964) puis Morishima et Oka (1981) à affirmer que la stérilité des hybrides F1 n'est pas un critère fiable de classification.

### 2. Caractères agromorphologiques

Plusieurs auteurs s'accordent pour écrire que les Chinois distinguaient depuis longtemps sur la base de la forme des grains les variétés *Hsien* et les variétés *Keng* (Ting, cité par Oka 1988; Chou, cité par Second 1982). Notons au passage que le polymorphisme des grains de riz est tel qu'il constitue une tentation majeure pour qui tente d'élaborer une classification variétale d'*O.sativa*, comme en témoignent les écrits de Portères.

Oka (1958) montre l'existence de discontinuités dans la distribution de certains caractères parmi 120 variétés asiatiques et établit que la réaction au phénol des glumelles (noircissement pour les variétés *indica*, non coloration pour les variétés *japonica*) permet de retrouver avec une grande fiabilité les 2 grands ensembles issus des analyses multivariées. Aucun caractère morphologique simple ne permet de discriminer les variétés *indica* et *japonica*. En particulier, le risque de mauvaise identification est élevé si on se base sur le seul critère de la forme du grain. Oka et Morishima (1981) précisent ces résultats et déterminent une combinaison de caractères (résistance au chlorure de potassium, sensibilité au froid, longueur de

l'aristation, et réaction au phénol) discriminant très bien les 2 ensembles *indica* et *japonica* dans leur échantillon de 89 variétés.

L'étude de caractères agromorphologiques a conduit Chang et Bardenas (1965) puis Jacquot et Arnaud (1979) à mettre en évidence trois grands groupes, le troisième étant appelé *javanica* en raison de sa répartition géographique tropicale. L'existence d'un troisième groupe avait déjà été avancée par Matsuo (1952) sur la base de la forme des grains. Cependant, Glaszmann et Arraudeau (1986) démontrent, en augmentant la taille de l'échantillonnage, que la diversité des variétés *japonica* est continue, et que les variétés dites *javanica* correspondent en fait au type tropical des variétés *japonica*. Insistons néanmoins sur le fait que le morphotype *javanica* n'est pas une vue de l'esprit et que ceci est une des causes de l'acharnement de certains auteurs à défendre l'idée d'une entité génétique *javanica* (Chang et al. 1990).

Il y a cependant aujourd'hui quasi-consensus, notamment au vu des caractères isozymiques (qui, historiquement, sont intervenus plus tard, voir plus loin) pour ne distinguer que 2 ensembles majeurs, *indica* et *japonica*, en incluant dans cette dernière les variétés *javanica*. Clément (1987) dénomme avec Glaszmann et Arraudeau (1986) ce dernier ensemble "*japonica* au sens large", appellation qui a entre autres mérites celui de sous-entendre qu'il existe des variétés *japonica* au sens strict.

Citons quelques caractères contribuant à la distinction *indica-japonica*:

- Sato (1991) reprend un critère voisin de la forme des grains en distinguant variétés *indica* et *japonica* asiatiques sur la forme des épillets.
- Photosensibilité plus fréquente chez les variétés *indica* que chez les variétés *japonica* (Chang et Bardenas 1965).
- Réponse du rendement à l'azote (variétés non améliorées) forte chez *japonica* et faible chez *indica* (Matsuo 1952)
- Compétitivité plus forte des variétés *japonica* (Oka 1960)
- Plus grande longévité des graines *indica* que des graines *japonica* (Oka et Tsai 1955)
- Différenciation d'agents pathogènes du riz (*Pyricularia oryzae*) en deux groupes "*indica*" et "*japonica*" (Morishima 1969).
- Différences dans le système racinaire (Ahmadi 1983)

- Différences dans le nombre de vaisseaux conducteurs dans la tige (*indica*>*japonica*, Huang 1988).
- Sato et al. (1990) observent une forme différente des corps siliceux ("plant opal")
- Tendance à un plus fort "cracking" des grains chez les variétés *indica* (Takita 1992)

### 3. Marqueurs biochimiques et moléculaires

#### a) Isozymes

Les résultats acquis par électrophorèse d'isozymes, en aboutissant à la description "neutre"<sup>1</sup> d'un grand nombre d'accessions ont permis une vue globale de l'espèce et grandement contribué à faire progresser les idées sur l'organisation d'*O. sativa*.

L'histoire des isozymes du riz peut se ramener à trois étapes (Glaszmann 1987). Plusieurs études ont tout d'abord montré que l'on pouvait caractériser avec un certain succès les variétés *indica* et *japonica* par des allèles enzymatiques particuliers: sur les peroxydases (Chu 1967, Shahi et al. 1969, Pai et al. 1973, Pai et Fu 1979) et sur les phosphatases acides (Pai et al. 1975, Pai et Fu 1979). La seconde étape fut accomplie par Nakagahra et al. (1975) et Nakagahra (1978), qui classent les riz cultivés à partir de trois locus estérases. Enfin, la mise au point d'une méthode d'électrophorèse d'enzymes sur gel d'amidon (Trousnot et Second 1980) génère des résultats qui permettront d'appliquer à l'étude de la diversité des riz les méthodes de taxinomie numérique.

Les premiers résultats de Second (1982) permettent de conclure sans hésitation à une partition en deux grands groupes qui correspondent aux sous-espèces *indica* et *japonica*. Ces résultats sont étendus et confirmés tant sur des variétés asiatiques (Glaszmann et al. 1984; Glaszmann 1986, 1987, 1988) qu'africaines (de Kochko 1987, 1988) ou malgaches (de Kochko 1988, Ahmadi et al. 1988). Toutes ces études mettent en évidence l'existence mais aussi la relative rareté de formes intermédiaires.

---

<sup>1</sup> Au sens où la comparaison rigoureuse de résultats acquis en des temps et lieux différents est possible, ce qui est beaucoup plus difficile avec des données agromorphologiques ou des données de fertilité hybride.

De même que pour le type javanica, l'analyse biochimique a permis de préciser les idées sur un certain nombre de types variétaux bien identifiés, existant en Inde et au Bangladesh, à Java et à Bali, et bien limités dans leur distribution géographique. Certains auteurs (Ueno et al. 1990) sont tentés de leur réserver une classification particulière. Le Tableau 4 (voir page (?)) montre que si les variétés sus-mentionnées constituent par exemple un groupe particulier, les riz bulu et tjereh se rattachent aux deux pôles *indica* et *japonica*.

### b) Autres marqueurs

L'analyse du polymorphisme (RFLP) de l'ADN chloroplastique permet également d'identifier deux grands groupes de cytoplasmes chez *O. sativa* correspondant aux sous-espèces *indica* et *japonica* (Dally 1988, Dally et Second 1990).

Plus récemment, Kawase et al. (1990) présentent la première classification issue de l'analyse RFLP du génome nucléaire (135 variétés asiatiques, 57 sondes). Là encore, la dichotomie *indica-japonica* est mise en évidence. On remarque que malgré l'emploi d'une nouvelle technique de plus forte résolution, cette classification apparaît nettement moins intéressante que celles, déjà citées, effectuées par Glaszmann sur plus de mille variétés. L'aspect quantitatif et qualitatif de l'échantillonnage des variétés apparaît donc primer sur la quantité de marqueurs. Sur 26 variétés asiatiques, Zhang et al. (1992) indiquent que la différenciation *indica-japonica* porte sur au moins 11 des 12 chromosomes et confirment la plus grande diversité des variétés *indica*.

Citons enfin d'autres études ayant apporté des éléments d'information, tout en précisant que le nombre de génotypes étudiés dans ces études est parfois faible et que de fait, variétés *indica* et *japonica* sont suffisamment différentes pour afficher des différences dès lors qu'on les cherche:

- Boyet (1985), par l'étude de marqueurs micro-moléculaires (flavonoïdes), retrouve la distinction *indica-japonica* et l'existence de types intermédiaires.
- Kadowaki et al. (1988) puis Sakamoto et al. (1991) mettent en évidence des différences entre variétés *indica* et *japonica* quant à la présence dans le cytoplasme de pseudo-plasmides mitochondriaux.
- Zhao et al. (1989) semblent être les premiers à mettre en évidence une tendance des variétés *japonica* à posséder moins de copies des séquences répétées que les variétés *indica*. Ainsi, Cordesse et al. (1990) notent une

tendance à une plus grande taille (plus grand nombre de séquences répétées) du spacer du gène codant pour les ARN ribosomiaux chez les variétés *indica* comparées aux variétés *japonica*. De même, de Kochko et al. (1991) établissent une différence dans le nombre de copies d'une séquence en tandem entre une variété *indica* (plus de copies) et deux variétés *japonica*.

- Chowdhury et al. (1988) observent un polymorphisme important de l'ADN mitochondrial entre deux variétés *indica* et *japonica*.
- Sano et al. (1986) montrent une répartition différente des allèles du locus *Wx* entre variétés *japonica* (allèle *Wxb*), *indica* (allèle *Wxa*) et *javanica* (les deux). Ce résultat confirmerait des données antérieures sur le contenu en amylose plus faible des variétés *japonica* (Lu et Chang 1980 cités par Sano et al. 1986).
- Des différences nettes de comportement en culture *in vitro* (aptitude à l'androgénèse, à la régénération de protoplastes) (Courtois 1989, 1991).
- Bien que le résultat soit d'un apport mineur pour la génétique du riz proprement dit, Dallas (1988) présente chez le riz un des premiers exemples d'utilisation des empreintes génétiques (*fingerprints*) chez les végétaux et distingue une variété *javanica* de plusieurs variétés *indica* en utilisant une sonde minisatellite de DNA humain.
- Signalons enfin, que nous avons obtenu des résultats, certes très restreints, indiquant que l'électrophorèse bidimensionnelle de protéines pourrait être à même de révéler un polymorphisme important au sein d'*O. sativa*.

#### 4. Concordances entre classifications

L'apport des études isoenzymatiques est là encore important dans la mesure où elles ont permis de conforter les classifications morphophysiologiques les plus intéressantes. Le Tableau 4, repris de Oka (1988), montre ainsi que la classification isoenzymatique de Glaszmann (1987) offre une concordance assez remarquable avec les classifications de Oka (1958), Jacquot et Arnaud (1979) et Cheng (1985). En particulier, le type *javanica* tel que le caractérisent Jacquot et Arnaud (1979) apparaît complètement intégré dans un ensemble *japonica*, confirmant ainsi qu'il n'y a pas lieu d'ériger les variétés *javanica* en entité distincte des variétés *japonica*.

Les choses apparaissent un peu moins simples pour les relations de fertilité. Ce décalage vient probablement du fait que les barrières reproductives ne sont pas soumises au même rythme d'évolution que les locus impliqués dans le

Tableau 4.

Correspondance entre les 6 groupes enzymatiques définis par Glaszmann (1987) et des classifications antérieures des variétés asiatiques de riz (tiré de Oka 1988).

Locality	Varietal type	Enzymatic group					
		I	II	III	IV	V	VI
Bangladesh and India	Aman	38					
	Aus	2	32				
	Boro	2	6				
	Deepwater Aus <sup>a</sup>		1	5			
	Rayada <sup>b</sup>				11		
	Basmati <sup>c</sup>					2	
Thailand and Laos	Lowland	168					
	Upland	12					64
Java and Bali	Tjereh	10					
	Gundil	4					10
	Bulu						24
China	Hsien	84					
	Keng						26
Korea and Japan		2					89
Author	Type	I	II	III	IV	V	VI
Oka (1958)	Indica	57				1	1
	Japonica						46
Jacquot and Arnaud (1979)	Indica	13	5			1	
	Javanica						53
	Japonica						17
Cheng, K.S. (personal communication)	Hsien	84	71	6		1	
	Hsien-cline		22			7	
	Keng-cline		2		1	14	
	Keng					49	26

<sup>a</sup> Special early-maturing varieties, photoperiod insensitive and adapted to deepwater conditions, found in Bangladesh and Manipur, India.

<sup>b</sup> Long duration, photoperiod sensitive and adapted to deepwater conditions, found in Bangladesh.

<sup>c</sup> High quality rice with special scent, grown in Burma to Iran. (from Glaszmann, 1987, partly rearranged)

polymorphisme morphologique ou biochimique, et qu'elles sont également plus difficiles à estimer de façon rigoureuse. Dès l'origine, il y eut décalage entre les travaux de Kato (Kato et al. 1928, Kato 1930), auteur des premières références scientifiques répertoriées sur le sujet et la distinction traditionnelle basée sur la forme des grains des variétés Hsien et les variétés Keng (Ting, cité par Oka 1988; Chou, cité par Second 1982).

Second (1982) compare les génotypes enzymatiques des variétés étudiées par Oka pour leur réaction de fertilité avec des variétés testeurs et constate que les variétés présentant les comportements extrêmes possèdent, sur les quatre locus *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Cat-1* et *Est-2*, des profils alléliques complémentaires, d'où la proposition de génotypes "ancestraux" et, par déduction, de génotypes "hybrides".

Glaszmann et al. (1990) confirment les résultats de Oka (1958) sur l'aptitude discriminante du caractère "résistance au froid" et observent une bonne concordance entre la classification en 2 groupes basée sur ce critère, les isozymes et les relations de fertilité F1 sur 6 testeurs. Cette étude est une des rares, sinon la seule, à envisager simultanément l'étude de critères physiologiques, biochimiques et reproductifs.

L'exemple qui va suivre aurait pu servir d'introduction à cette présentation des problèmes de classification chez le riz. Il nous semble pouvoir servir de conclusion partielle.

Cet exemple est donné par Clément (1987). Cet auteur, sélectionneur expérimenté, inclut sur la base de caractéristiques morphologiques indiscutables la variété Med Noï dans un plan de croisement diallèle de variétés *japonica* au sens large. L'analyse du tableau diallèle montre que cette variété trouble le modèle d'additivité-dominance et présente des relations de superdominance. Ces résultats conduisent l'auteur à mettre en doute l'appartenance de Med Noï à l'ensemble *japonica*. Les analyses enzymatiques et l'observation de relations de fertilités confirment les doutes: Med Noï est une variété *indica*.

## B. LES BARRIERES REPRODUCTIVES

De nombreuses barrières reproductives, en relation ou non avec la fertilité hybride, ont été observées dans les croisements intervariétaux chez *O. sativa*. Nous y consacrerons une partie spécifique, en y incluant le cas particulier des variétés dites "à compatibilité large".

Il faut lire Oka (1988) pour une revue très documentée sur les barrières reproductives dans le groupe *Sativa*. Ce groupe abonde en situations illustrant la diversité des barrières reproductives chez les végétaux. Etrangement, les résultats sur le riz sont assez peu cités lors de revues bibliographiques ou travaux sur des sujets voisins, sans doute parce que le vocabulaire employé semble parfois particulier.

### **1. Faiblesse F1**

Le terme "faiblesse" est pris ici au sens large et comprend tout phénomène de chlorose, nécrose, apparence chétive...

La faiblesse F1 est très rare dans les croisements intra *O. sativa*. Oka (1988) n'en recense que trois cas. Yonezawa et al. (1990) ont présenté un modèle utilisant cette faiblesse hybride pour détecter des contaminations génétiques dans les champs cultivés.

### **2. Faiblesse F2**

Là encore, peu de cas sont mis en évidence (Oka 1957, Okuno 1985, 1986, Sato et al. 1984). Oka (1957) propose un modèle explicatif à base de 2 gènes dupliqués. Sato et al. (1984) mettent en évidence des gènes complémentaires impliqués dans l'apparition en F2 de plantes chlorotiques.

### **3. Stérilité F1**

#### **a) Les modèles explicatifs**

Diverses explications ont été avancées pour expliquer la plus importante, par sa fréquence, son intensité et ses conséquences, des barrières reproductives intra-*O. sativa*.

L'analyse cytogénétique a pu donner l'impression de donner des résultats contradictoires. En effet, si Shastry (1964) met en évidence une fréquence d'apparition d'anomalies méïotiques plus élevées chez des hybrides F1 semi-stériles que chez les lignées parentales, Engle et al. (1969) et Bouharmont (1963, 1982) estiment que les hybrides F1 ne montrent pas de perturbations significatives au moment de l'appariement et de la disjonction chromosomique. Hsieh et Oka (1958), Velasco-Demetrio et al. (1965) ne constatent pas de corrélation entre la stérilité et les anomalies méïotiques présentes.

Malgré tout, l'existence d'anomalies à la méiose demeure un fait et traduit sans doute des différences chromosomiques. De petites différences chromosomiques ne causent pas forcément d'anomalies méiotiques détectables au microscope et relèvent de ce que Stebbins (1958) appelle "cryptic structural hybridity". Il est à prévoir que les résultats issus de l'analyse moléculaire du génome apporteront de nouveaux éléments. Bien qu'il semble que les premières comparaisons entre génome *indica* et *japonica* issues de l'analyse du RFLP ne mettent pas en évidence d'inversions ou de translocations comme on aurait pu l'attendre mais surtout des substitutions de bases et des insertions/délétions (Zhang et al. 1992), nous avons mentionné plus haut (voir page 34) l'existence de différences quantitatives sur les séquences répétées.

Le généticien japonais Oka a été le grand artisan de l'élaboration de modèles génétiques simples visant à expliquer la stérilité (Oka 1974a). Ces modèles sont détaillés dans les Figures 4a à 4c:

- "Duplicate gametic recessive lethal genes"
- "One locus sporo-gametophytic interaction"
- "Complementary sporophytic sterility"
- "One locus sporophytic sterility"

Si les 2 premiers modèles ont trouvé applications dans plusieurs études de descendance (voir notamment Clément et Poisson 1986b), aucun cas n'a été rencontré obéissant au modèle "Complementary sporophytic sterility". Selon Oka (1988), des observations de Yokoo (1984, 1986) pourraient correspondre au modèle "One locus sporophytic sterility". Ces observations sont parmi les rares à mettre spécifiquement en évidence des exemples de stérilité des gamètes femelles.

### **b) Les variétés à compatibilité large**

Ikehashi (1982) semble être le premier à introduire le terme "compatibilité" pour désigner "le mécanisme génétique qui surmonte la stérilité hybride". Les variétés à compatibilité large (WCV: Wide compatibility variety) sont des variétés dont les hybrides F1 présentent une bonne fertilité tant avec les variétés *indica* qu'avec les variétés *japonica*. Le terme "compatibilité" n'est pas des plus heureux car il évoque le vocabulaire relatif à la biologie de la pollinisation et aux diverses formes d'incompatibilité. Bien que Oka ait proposé de lui substituer le mot "affinity",

**Figures 4a à 4d.**

Modèles génétiques introduits par Oka pour expliquer la stérilité hybride.

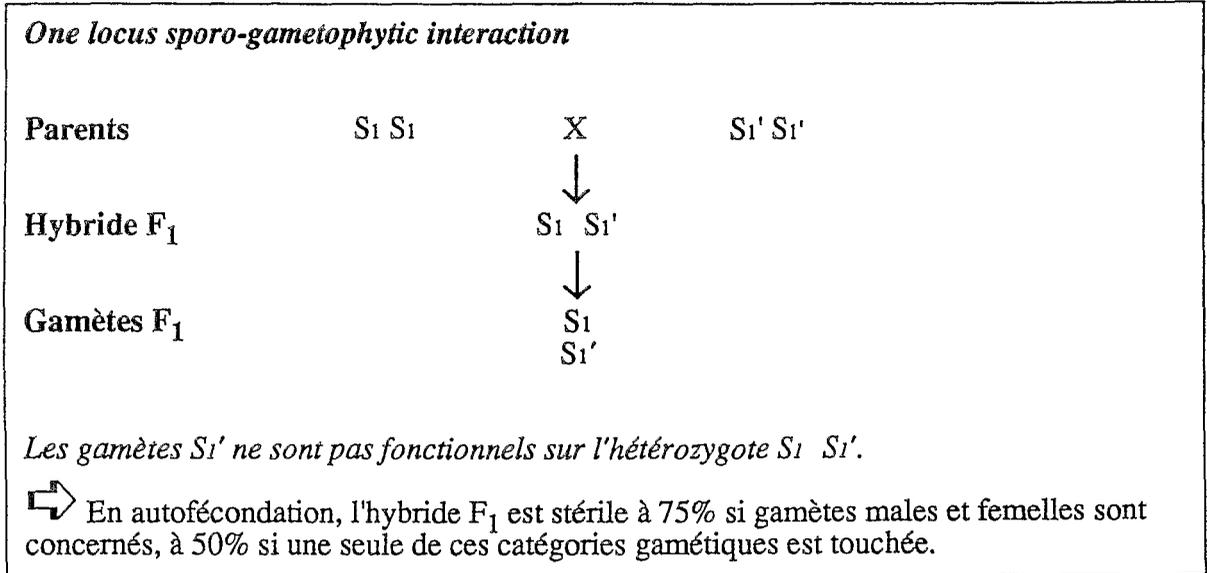
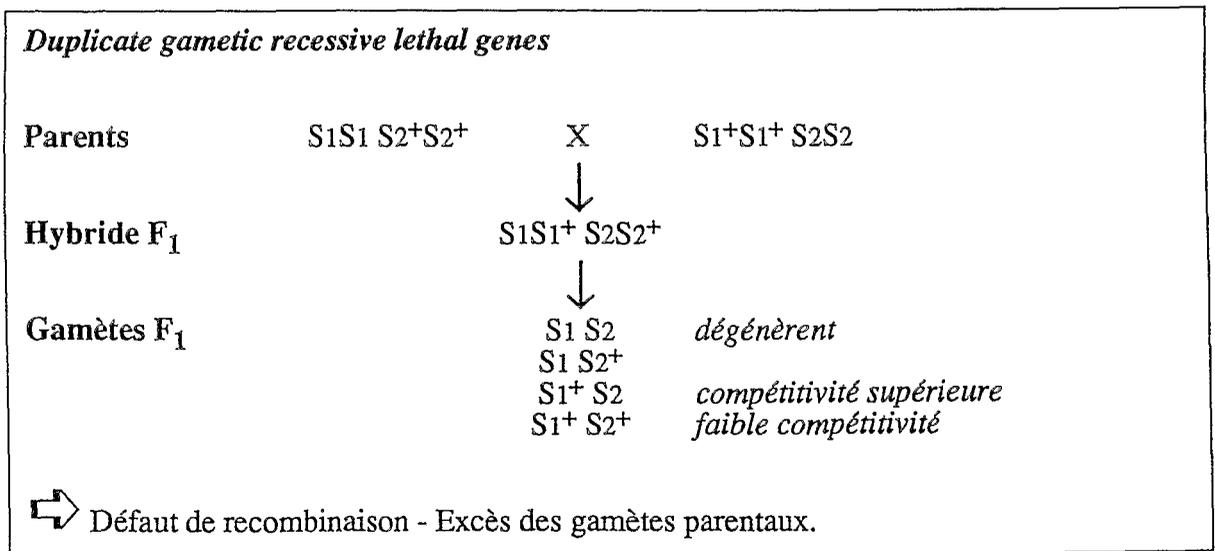
**Fig. 4a****Fig. 4b**

Fig. 4c

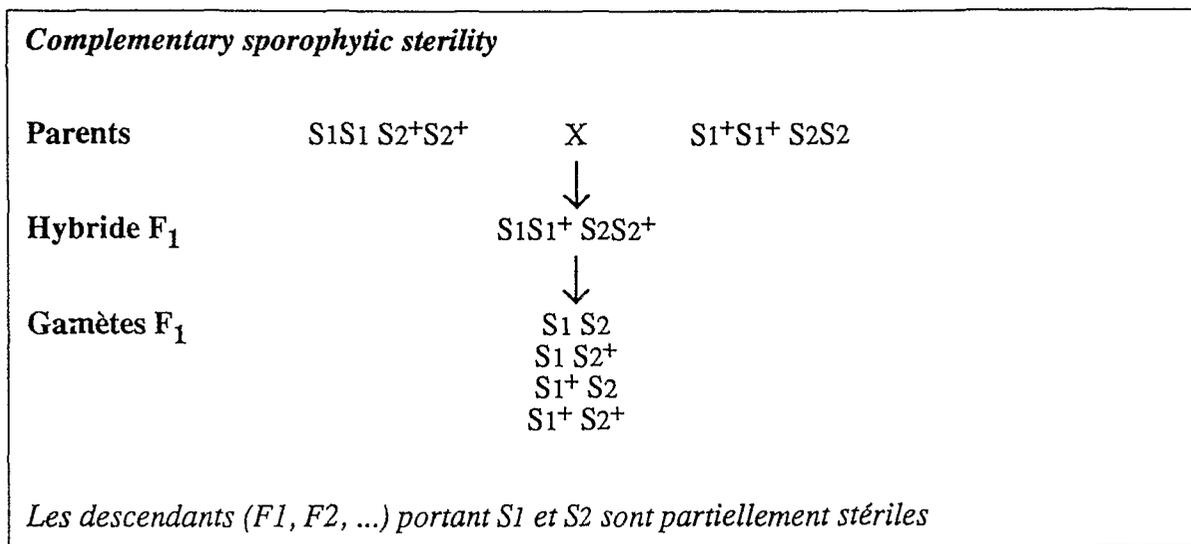
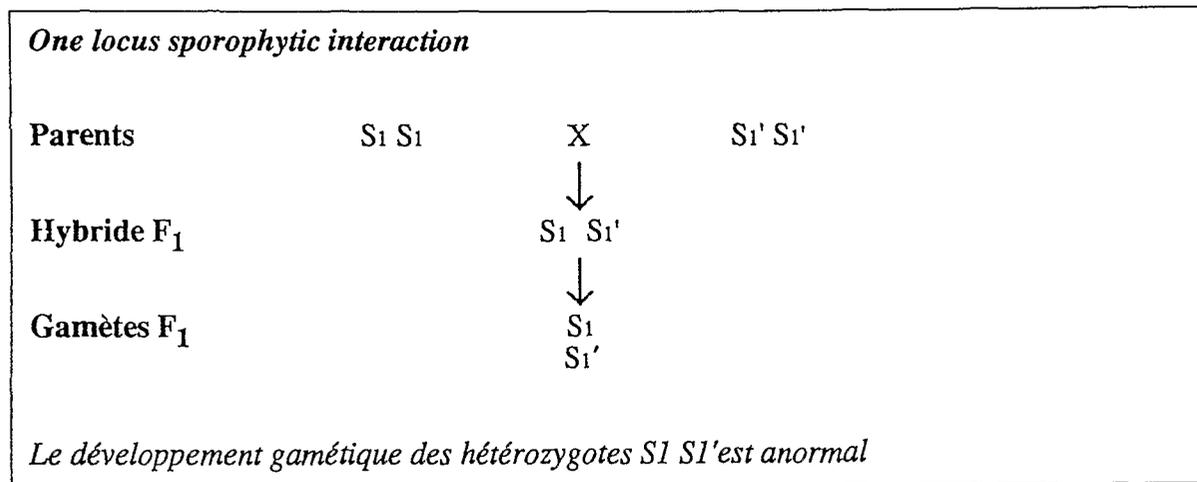


Fig. 4d



"compatibility" est cependant largement rentré dans le vocabulaire courant de la génétique du riz et il sera employé ici dans cette acception.

L'identification du phénomène de compatibilité large est bien antérieure à sa désignation. Morinaga et Kuryama (1958) identifient les variétés Bulu et Aus comme intermédiaires. Ces variétés sont des riz pluviaux, originaires de Java pour les riz Bulu, du Bengale pour les riz Aus. Clément et Poisson (1986a) confirment ces résultats et les étendent aux variétés javanica.

Le déterminisme génétique de la compatibilité large est expliquée par l'existence d'allèles particuliers aux locus mis en cause pour expliquer la stérilité dans les deux premiers modèles décrits plus haut. L'étude de ce mécanisme est essentiellement le fait du groupe de Ikehashi (1982, 1984, 1986, 1991).

#### 4. Compétitions gamétophytiques

Iwata et al. (1964), Nakagahra (1972), Nakagahra et al. (1972, 1974) montrent l'existence de gènes dits de certation, influant sur la compétitivité des gamètes mâles. Ce mécanisme est indépendant des systèmes de stérilité. L'édition 1988 de Rice Genetics Newsletter recense 10 gènes de certation.

#### 5. Conséquences pour les ségrégations

La mise en évidence de ségrégations anormales est ancienne puisque Nakagahra et al. (1974) citent Chao (1928) comme rapportant l'effet "perturbateur" du locus *Wx*. Ce locus et d'autres (locus *C* et *alk*) appartenant au même groupe de linkage I, plus tard associé au chromosome 6, serviront de marqueurs à de nombreux auteurs dont Mizushima et Kondo (1959, 1960, 1961) et Kondo (1963) qui évoqueront des duplications géniques ou chromosomiques.

Des troubles ne sont pas seulement observés pour les ségrégations monocus, mais aussi pour les ségrégations bi-locus. Oka (1956) note des restrictions à la recombinaison entre locus génétiquement indépendants. Nakagahra (1972) note une fréquence de recombinaison moindre dans des croisements *indica-japonica* qu'entre croisements *intra-japonica*. Omura (1981) semble rencontrer des problèmes du même type (cité par Ikehashi 1982).

Là encore, l'apport de Oka est déterminant. L'examen des modèles proposés pour expliquer la stérilité hybride (voir plus haut) montre clairement que les ségrégations de locus liés aux gènes de stérilité vont être perturbées dans les

contextes génétiques où cette stérilité va s'exprimer. Il en est évidemment de même pour les gènes de certation (le raisonnement est ici renversé puisque c'est le suivi de marqueurs qui a suggéré le modèle des gènes de certation).

L'observation générale de retour sur les phénotypes parentaux lors d'hybridations *indica/japonica* a conduit à rechercher des associations de caractères dans ces descendance. Oka (1958) observe des restrictions à la recombinaison en F2 qu'il interprète avec son modèle de gènes gamétiques dupliqués. Sato et al. (1990) observent des associations non aléatoires de caractères monogéniques à la génération F5 d'un croisement *indica-japonica* et avancent comme explication l'hypothèse de sélections gamétiques.

### C. GROUPES OU SOUS-ESPECES ?

Un des aspects du débat, rarement clairement affiché, est d'ordre terminologique. Il oppose le terme *sous-espèce* à tous les autres (sauf peut-être écotype). Les raisons d'être de ce débat sont doubles: les nombreuses différences répertoriées entre variétés *indica* et *japonica* justifient-elles une taxinomie particulière ? Cette position est-elle raisonnable au vu des origines d'*O. sativa* ?

Deux hypothèses principales sur l'origine de la partition *indica-japonica* ont été émises (voir Second 1982 pour l'exposé des autres hypothèses). La première, par Oka et son équipe du NIG, opte pour une domestication d'*O. sativa* en différents centres, suivis de différenciation (le terme "differentiation" sera employé par l'équipe du NIG dans la plupart de ses publications). Cette hypothèse (dite monophylétique) se fonde sur la potentialité chez l'ancêtre sauvage *O. rufipogon* à évoluer à la fois en types *indica* et *japonica*. Sano et Morishima (1992) défendent récemment cette hypothèse en s'appuyant sur l'existence de formes alléliques intermédiaires dans des variétés traditionnelles de l'Himalaya. La seconde hypothèse (Second 1982), sur la base du polymorphisme enzymatique, présente *indica* et *japonica* comme issus de deux domestications indépendantes (hypothèse diphylétique) à partir de populations déjà différenciées de l'ancêtre sauvage *O. rufipogon*, l'une sur le sub-continent indien (*indica*), l'autre en Chine (*japonica*)<sup>2</sup>. La diversité d'*O. sativa* proviendrait, outre les apports des espèces sauvages, des introgressions réciproques entre sous-espèces

<sup>2</sup> Cette origine chinoise, sans doute associée à la cordialité habituelle des relations sino-japonaises, a conduit les scientifiques chinois à demander le changement de l'appellation *japonica* en *sinica*. Il est vrai que les termes *indica* et *japonica* n'ont actuellement pas le même sens pour tout le monde (Glaszmann 1987) et l'on peut rejoindre cet auteur, et d'autres, pour approuver l'éventuel choix des dénominations *Hsien* et *Keng*.

*indica* et *japonica*. Glaszman (1988), toujours à partir de données isozymiques, appuie l'hypothèse diphylétique et, en affinant l'étude de la répartition géographique des allèles, situe la domestication de *japonica* dans la partie montagneuse de la partie continentale de l'Asie du Sud-Est (province chinoise du Yunnan, nord du Laos et nord-Est de la Birmanie) tandis que l'origine des variétés *indica* serait pour sa part plus diffuse sur le sous-continent indien. Les multiples échanges qui ont eu lieu en Asie du fait de la coexistence des deux entités rendent vraisemblablement impossible l'identification des types originaux dans cette hypothèse diphylétique. Une telle identification pourrait peut-être résulter de la découverte et de l'étude de grains fossiles (paléobotanique moléculaire). Une autre approche, basée sur la comparaison de la variabilité des populations sauvages et des variétés traditionnelles de la même région, pourrait également apporter des informations. Déjà esquissée avec les marqueurs isozymiques, ce type d'étude pourrait trouver un nouvel intérêt avec un marquage plus fin par RFLP. Ainsi, des résultats récents de Wang et al. (1992) montrent, d'après des distances génétiques calculées sur la base du polymorphisme RFLP, la proximité génétique plus faible entre une variété *indica* et une variété *japonica* qu'entre chacune de ces variétés et des accessions (différentes) d'*O. rufipogon*. Ces résultats appuyent donc l'hypothèse d'une domestication indépendante.

Il n'est cependant pas plus facile de définir le terme "sous-espèce" que celui d'espèce. Si Mayr (1970) définit les espèces comme les "groups of interbreeding natural populations that are reproductively isolated from other such groups", cette définition se satisfait mal de l'existence de celle de complexe d'espèces. Le généticien ne trouve finalement son salut que dans la définition quelque peu désabusée de Pernès (1984): "ce que le spécialiste du groupe estime être une espèce". Risquons une définition de la sous-espèce: sous-ensembles importants d'une espèce, entre lesquels les flux géniques sont perturbés par des barrières reproductives (biologiques). Sur cette base, il nous semble juste que l'adoption du terme *sous-espèce* se généralise. Cette position est aussi celle de plusieurs auteurs dont Omura (1983) et Ikehashi (1982). Oka (1983, 1988) défend pour sa part l'appellation *groupe* ou *type* et réfute l'appellation sous-espèce car il n'y a pas de caractère taxinomique simple permettant de discriminer les deux entités. Ceci, bien qu'exact, ne constitue pas vraiment un argument valable car il pourrait être avancé pour remettre en cause la partition en espèces dans d'autres genres.

Nous essaierons d'apporter quelques éléments à ce débat au cours de ce travail, et donnerons lors de la discussion générale des exemples de son utilité.

## D. L'ORGANISATION D'*O. GLABERRIMA* ET SES RELATIONS AVEC *O. SATIVA*

### 1. Variabilité d'*O. glaberrima*

Si des hypothèses contradictoires ont pu être émises sur l'origine d'*O. glaberrima* (voir Second 1984 pour revue), tous les arguments objectifs convergent aujourd'hui pour affirmer l'origine africaine de cette espèce (Portères 1950), via la domestication de populations de son ancêtre sauvage *O. breviligulata*. Là encore, l'étude du polymorphisme biochimique se révéla une précieuse méthode d'investigation en démontrant que la variabilité isozymique d'*O. glaberrima* était parfaitement incluse dans celle d'*O. breviligulata* (Second 1985a), argument fort en faveur de la filiation entre les 2 espèces. Les analyses RFLP de l'ADN chloroplastique (Dally 1988, Dally et Second 1990) et nucléaire (Wang et al. 1992) ne viennent ensuite que confirmer une hypothèse bien établie.

La variabilité d'*O. glaberrima* est faible. Estimée sur 20 locus isozymiques, la diversité génétique d'*O. glaberrima* n'est que de 0.026 contre 0.223 pour *O. sativa* en Afrique (Bezançon et al. 1989). Pour Ghesquière (1988), l'isolement reproductif de l'espèce ancêtre *O. breviligulata* vis à vis d'*O. longistaminata* n'est pas étranger à cette faible diversité.

S'il n'y a pas d'axe de différenciation mimant l'axe *indica-japonica* (Miezan et Ghesquière 1986), il existe en revanche deux écotypes, "dressé" et "flottant" correspondant aux deux types de culture d'*O. glaberrima*, pluviale et inondée.

La zone de culture d'*O. glaberrima* est aujourd'hui en forte régression. Ce recul est généralement expliqué par le faible rendement d'*O. glaberrima* comparé à celui d'*O. sativa*. Ajoutons-y le fait qui nous a été exposé par des femmes ivoiriennes, à savoir sa résistance au pilon lors du décorticage (Desgrees du Lou et al. 1988). Ceci n'est pas à négliger lorsqu'on sait l'importance du travail féminin à de nombreuses étapes de la riziculture traditionnelle, du semis à la préparation culinaire. En Côte d'Ivoire, le maintien d'*O. glaberrima* s'explique souvent par des raisons d'ordre rituel. Ce peut être par exemple le riz des femmes ayant eu des jumeaux, celui des personnes dont "l'autre sorte de riz" est le totem. La taille des parcelles est alors réduite à quelques mètres carrés. En Casamance, au Togo, au Ghana (Akromah 1987), au Burkina Faso (Sié 1991), la culture d'*O. glaberrima* demeure cependant plus présente.



Bien qu'on reconnaisse à certains cultivars d'*O. glaberrima* des qualités particulières telles que, par exemple, un tallage précoce (observations de sélectionneurs), une tolérance à la sécheresse (Sano et al. 1984), au Rice Yellow Mottle Virus (John et Thottapilly 1987, John et al. 1985, Attere et Fatokun 1983) ou à des insectes (Vercambre 1982, Sauphanor 1985, Alam 1988), voire même un nombre élevé de ramifications primaires de la panicule (Mallik et al. 1988a, 1988b), la situation peut grossièrement se résumer en écrivant que les qualités les plus intéressantes d'*O. glaberrima* se retrouvent également chez des cultivars d'*O. sativa*. La Figure 5 montre à titre d'exemple le tallage précoce de la variété *O. glaberrima* CG1 (Casamance), supérieur à 10 variétés d'*O. sativa* mais inférieur à une onzième, 2LS102.

Faible variabilité, potentiel agronomique apparemment limité, ces éléments ne militent pas en faveur de programmes d'amélioration basés uniquement sur *O. glaberrima*.

L'origine différente d'*O. glaberrima* est donc de fait le principal argument pour affirmer que l'espèce africaine est une source potentielle d'amélioration pour *O. sativa*. On trouve une forme de confirmation de cet argument dans les résultats de Silue et Notteghem (1991) qui, testant 99 accessions d'*O. glaberrima* pour la résistance à la pyriculariose, observent pour certaines une résistance non pas supérieure à celle d'*O. sativa*, mais des spectres différents.

L'avenir d'*O. glaberrima*, si avenir il y a, passe alors vraisemblablement par son intégration dans des schémas d'amélioration plus complexes d'*O. sativa*. Les difficultés à affronter ne sont malheureusement pas minces.

## 2. Relations entre *O. sativa* et *O. glaberrima*

Les deux espèces possèdent le génome AA (Morinaga 1964). Leurs chromosomes s'apparient normalement chez l'hybride F1 (Chu et al. 1969) bien que Oka (1988) relève quelques légères anomalies.

Outre ces données cytogénétiques, l'idée d'échanges géniques entre les 2 espèces vient du constat de leur cohabitation en certaines zones rizicoles et plus encore des observations visuelles de plantes présumées hybrides faites au cours de prospections au Tchad (Borgel et Second 1978) ou en Côte d'Ivoire (Pham et de Kochko 1983, Photo 3). Sano (1989) conclut, à partir d'essais en champ menés au Japon, à une pollinisation orientée dans le sens d'*O. sativa* vers *O. glaberrima*. Il

reste cependant à démontrer qu'il y a vraiment échange génique entre les espèces car les fortes stérilités manifestées au cours des 2 premières générations d'hybrides ne peuvent rendre cet événement que peu fréquent. Oka (1988) relève de plus qu'une barrière phénologique ajoute à la séparation des deux espèces puisque selon lui *O. glaberrima* fleurit plus tôt dans la matinée que *O. sativa*.

A notre connaissance, et contrairement à ce qui est observé pour *O. longistaminata* (Ghesquière 1988), l'évaluation isozymique n'a pas mis en évidence d'introgression fixée de l'une des deux espèces dans l'autre. Le seul résultat avoisinant est noté par Second (1982) qui identifie une forme de *O. breviligulata* adventice comme pouvant résulter de l'introgression par *O. glaberrima* de gènes d'*O. sativa*. Il faut toutefois noter que l'on dispose de davantage de marqueurs isozymiques pour repérer les introgressions d'*O. longistaminata* que les échanges entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. L'emploi de marqueurs plus fins pourrait sur ce point apporter d'utiles informations.

La stérilité des hybrides F1 entre les deux espèces cultivées est très forte puisque leur fertilité paniculaire est le plus souvent nulle. Sano et al. (1979) ont établi qu'une part de la stérilité pouvait s'expliquer, tant au niveau des gamètes mâles qu'à celui des gamètes femelles, par un modèle d'interaction sporogamétophytique semblable à celui décrit plus haut pour *O. sativa* (Figure 4). Sano (1990) a récemment affiné l'étude du système et démontré que le gène "gamete killer" était en fait composé d'un complexe "pollen killer"/"modifier" (voir Chapitre XIII la discussion sur les ségrégations de marqueurs dans les rétrocroisements *O. glaberrima/O. sativa/O. sativa*).

Il faut donc considérer *O. glaberrima* comme appartenant, dans la terminologie de Harlan et de Wet (1971), au pool secondaire d'*O. sativa*. On remarquera ici que cette classification n'est pas en contradiction avec la représentation de Harlan (1975) qui affiche deux pools primaires *O. sativa* et *O. glaberrima*. L'explication réside simplement dans le fait qu' Harlan place les deux espèces sur le même plan, tandis que nous considérons *O. glaberrima* comme source d'amélioration d'*O. sativa*. La situation inverse, *O. sativa* comme source d'amélioration de *O. glaberrima*, aurait conduit à considérer *O. sativa* comme pool secondaire d'*O. glaberrima*.

**Photo 3.**

Panicule d'un hybride naturel présumé entre les 2 espèces de riz cultivé *Oryza glaberrima* et *O. sativa*, observé en zone de riziculture traditionnelle dans le Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire.



**Tableau 5.**

Variétés utilisées dans les différents croisements

Nom	Origine	Type cultural (a)	Structure enzymatique	Réaction au phénol
<i>O.sativa</i>				
ES70-6	Tanzanie (Ile de Pemba)	phréatique	<i>japonica</i>	-
YS138-3	Guinée	pluvial	<i>japonica</i>	-
YS252-1	Guinée	phréatique, pluvial	<i>japonica</i>	-
YS309	Guinée	phréatique	<i>japonica</i>	+
YS45-1	Guinée	pluvial	<i>japonica</i>	-
BS117	Guinée-Bissau	phréatique	<i>indica</i>	+
BS125	Guinée-Bissau	?	<i>indica</i>	+
BS20	Guinée-Bissau	pluvial	<i>indica</i>	-
ES44	Tanzanie	irrigué	<i>indica</i>	+
ES79	Tanzanie (Ile de Pemba)	pluvial	<i>indica</i>	+
SS404	Sénégal	irrigué	<i>indica</i>	+
2LS102	Mali	irrigué	<i>indica</i>	+
108	Taïwan	irrigué	<i>indica</i>	+
521	Japon	pluvial	<i>japonica</i>	-
563	Japon	pluvial	<i>japonica</i>	-
<i>O.glaberrima</i>				
CG1-3	Sénégal (Casamance)	pluvial		-
WO25	Guinée-Bissau	pluvial		-

(a) Terminologie proposée par de Datta (1981)

## **Chapitre III. MATERIELS ET METHODES**

### **A. GENOTYPES UTILISES EN CROISEMENT**

#### **1. Géotypes *O. sativa***

##### **a) Origine**

Douze variétés traditionnelles africaines d'*Oryza sativa* constituent le matériel de base de cette étude. Elles proviennent toutes de la collection ORSTOM. Si c'est leur diversité enzymatique qui a été principalement à la base de leur choix, cela s'est également traduit, comme le montre le Tableau 5, par la représentation d'une diversité non négligeable des situations géographiques et des modes culturaux.

On remarquera qu'il y a cependant prépondérance des riz de Guinée, explicable par la très grande attention qui fut portée aux riz de ce pays au cours de deux campagnes de prospection (Bezançon et al. 1984). L'extrême richesse de la riziculture traditionnelle de ce pays (Portères 1966) justifiait cette attention d'une part, et la place donnée aux riz guinéens dans cette étude d'autre part.

Toutes les semences qui ont été utilisées dérivent des accessions d'origine par de nombreuses générations d'autofécondations contrôlées afin d'éliminer tant que possible une hétérozygotie potentielle des plantes d'origine, les cultivars traditionnels présentant un polymorphisme non négligeable (Ghesquière et Miezian 1982). Ce sont donc des lignées présumées pures qui ont été utilisées, tant en croisement qu'en témoins.

Tableau 6.

Profils isoenzymatiques de quelques unes des variétés utilisées en croisement

Variété	Est										Pox		Amp	Got			Pgi		Pgd		Cat	Enp		Sdh	Adh	Acp		Ph
	8	5	6	1	2	4	9	10	7	3	3	4	1	1	2	3	1	2	1	2	1	2	1	1	1	2		
ES70-6	2	1	0	0	0	0	1	1	2	1	3	2	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	3	1	9	0	-	
YS138-3	2	1	0	0	0	0	1	1	2	1	3	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	3	1	9	0	-	
YS252-1	2	1	0	0	1	0	1	1	2	2	3	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	3	1	9	0	-	
YS309	2	1	0	1	1	0	1	1	2	1	4	1	2	1	1	2	2	1	3	1	1	1	3	1	9	+	+	
YS45-1	2	1	0	0	1	0	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	2	1	3	1	1	1	3	1	9	0	-	
BS117	1	0	2	1	0	2	0		0	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	1	-4	+	+	
BS125	1	0	2	1	2	2	0		0	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	-4	+	+	
BS20	2	1	0	1	1	2	0		0	2	4	1	1	2	1	1	2	3	3	1	1	1	2	2	-4	+	+	
ES44	1	1	2	1	1	2	0		0	2	4	1	3	1	1	1	1	2	2	1	1	0	3	1	-4	+	+	
ES79	1	0	2	1	2	2	1		0	2	4	1	1	1	1	1	2	1	3	1	1	0	3	1	-4	+	+	
SS404	1	1	2	1	2	0	1	1	0	2	4	1	1	1	1	1	2	2	3	1	1	1	4	1	-4	+	+	

## b) Variabilité biochimique et moléculaire

Le profil enzymatique des variétés choisies est donné dans le Tableau 6.

La classification de ces variétés dans les groupes établis par de Kochko (1988) à partir de l'étude du polymorphisme enzymatique de 831 variétés africaines traditionnelles d'*Oryza sativa* est la suivante:

- Groupe I: YS45-1 et YS252-1
- Groupe II: YS138-3 et ES70-6
- Groupe IV: ES44
- Groupe V: SS404, BS117
- Groupe VII: ES79
- Groupe VIII: YS309, BS20, 2LS102
- Groupe IX: BS125

Les groupes I et II regroupent des variétés *japonica*. Ces variétés présentent toutes une réaction au phénol négative. Les groupes IV, V, VII et IX regroupent des variétés *indica*, toutes de réaction au phénol positive.

Le groupe VIII est particulier, car il regroupe des variétés présentant des allèles rares, traces présumées d'introgession par l'espèce sauvage *O. longistaminata*. En fait, si l'on excepte ces allèles rares, BS20 et 2LS102 ont un profil enzymatique *indica*, tandis que YS309 est de type *japonica*. BS20 et YS309 présentent une réaction au phénol opposée à leur type enzymatique, négative pour BS20, positive pour YS309.

Une autre classification des riz cultivés sur des critères isozymiques a été établie par Glaszmann (1987) à partir d'un échantillonnage de variétés asiatiques. La classification des variétés dans cette typologie est la suivante:

- Groupe I: ES44, SS404, BS117, BS125, ES79
- Groupe II: BS20, 2LS102
- Groupe VI: YS309, YS45-1, YS252-1, YS138-3, ES70-6

La variété BS20 occupe une place un peu particulière, dans la mesure où nous la classons introgressée par *O. longistaminata* jusqu'à ce que Glaszmann mette en évidence la structure allélique particulière des variétés *aus*. BS20 peut alors ne plus être considérée comme possédant des allèles caractéristiques

d'*O. longistaminata*, mais comme étant seulement un représentant africain de variétés déjà particulières en Asie.

Il nous a paru honnête de présenter ci-dessus les deux classifications utilisant les isozymes, établies par de Kochko (1988) et de Glaszmann (1987). Il se trouve que la seconde est aujourd'hui devenue la classification de référence. C'est donc celle-là qui sera privilégiée par la suite.

On soulignera ici que l'échantillon étudié n'est en aucune façon aléatoire. Il accorde à des génotypes particuliers un poids bien plus important qu'il ne conviendrait de le faire si on souhaitait garder aux groupes I et II leur importance par rapport aux autres groupes.

Les Tableaux 5 et 6 font apparaître un autre descripteur des variétés: la réaction au phénol des glumelles. C'est Oka (1958) qui a montré tout l'intérêt de ce descripteur pour la classification d'*Oryza sativa*, en établissant que ce caractère était le meilleur critère simple pour retrouver la classification des variétés *indica* et *japonica* basée sur de nombreux caractères morphophysiologiques.

Enfin, une autre évaluation biochimique de la diversité de ces variétés a été réalisée par S.H. Zhang (ORSTOM Montpellier). L'analyse du polymorphisme des fragments de restriction (RFLP) de l'ADN chloroplastique a été réalisée, pour la seule enzyme de restriction *EcoRI*, selon le protocole expérimental développé par Dally et Second (1989). Les résultats mettent en évidence trois types de cytoplasme dans l'échantillon étudié:

- YS252-1, YS138-3, YS45-1, SS404, BS125, YS309
- ES79, BS117, ES44
- BS20, 2LS102

On note que les 4 variétés *japonica* testées (ES70-6 n'a pas été analysée) sont identiques, alors que les variétés *indica* sont scindées en 3 groupes, dont l'un regroupe également les variétés *japonica*.

### **c) Description morphologique**

Une description morphologique de ces variétés a été réalisée au cours de l'essai sur les hybrides F1. Ces douze variétés peuvent être partagées en quelques types distincts.

YS252-1 et YS45-1 sont caractéristiques des riz pluviaux traditionnels de type *javanica*: tallage moyen, port dressé, tiges épaisses, grains relativement gros, feuilles larges. ES70-6 et YS138-3 sont plus proches d'un type *japonica* pluvial classique: haut, peu de talles productifs.

BS20 se caractérise essentiellement par la forme de ses petits grains. (Photo 4).

2LS102 et YS309 ont tous deux un tallage très important. YS309 possède de plus une structure paniculaire très particulière puisque ressemblant beaucoup à une panicule d'*O. glaberrima*.

Les variétés *indica* utilisées dans ce travail ont un phénotype relativement homogène: tallage relativement important, panicule assez courte et peu ramifiée, grain allongé. Les variétés tanzaniennes ES44 et ES79 sont photosensibles.

La Figure 6 présente les résultats d'une analyse en composantes principales réalisées sur les lignées parentales à l'occasion de l'essai sur les hybrides F1 qui sera présenté plus loin.

Quelques variétés présentent des pigmentations: YS309 (apiculus et base des talles), BS125 (forte pigmentation à la base des talles et au niveau du premier entre-noeuds).

#### **d) Autres variétés utilisées**

Trois variétés asiatiques ont également été utilisées. Elles proviennent des collections du NIG<sup>1</sup>. Oka (1958) les a utilisées comme représentants des pôles *indica* (accession 108) et *japonica* (accessions 521 et 563), en se basant sur leurs relations de fertilités avec un ensemble de variétés asiatiques.

## **2. Géotypes *O. glaberrima***

Deux géotypes d'*O. glaberrima* sont principalement intervenus dans ce travail: WO25 (collection NIG), variété de Guinée-Bissau, et CG1-3 (collection ORSTOM), variété du Sénégal (Casamance). La variété WO25 a été utilisée par Sano et al. (1979), Sano (1983, 1990) pour l'étude des relations entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. Bien qu'aucun contrôle n'ait été fait en ce sens, il existe peu de risque

---

<sup>1</sup> National Institute of Genetics (Mishima, Japon)

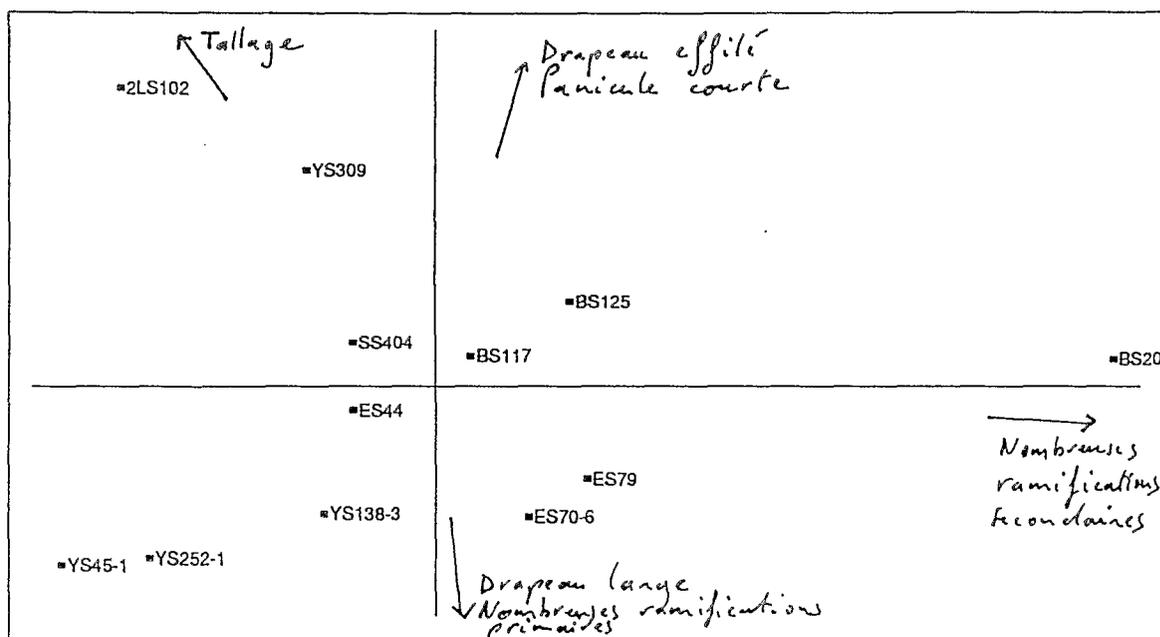
Photo 4.

Panicules des variétés *O. sativa* BS20 (à gauche) et ES70-6 (à droite). Remarquer la petite taille des grains de BS20.



Figure 6.

Position des 12 variétés d'*O. sativa* dans le plan défini par les 2 premiers axes d'une ACP sur les données agromorphologiques



que nous avons utilisé un WO25 génétiquement différent de celui de l'équipe du NIG.

## **B. REALISATION DES CROISEMENTS**

Les hybridations sont réalisées par castration manuelle et approche de panicules. On choisit comme parent femelle une plante dont au moins une panicule est complètement exsertée et a de préférence commencé à fleurir la veille. Cette panicule est dépouillée aux ciseaux (de type dissection) des épillets supérieurs (floraison basipète) ayant déjà fleuri et de ceux de la partie inférieure, trop jeunes. On procède ensuite sur les épillets restants, l'un après l'autre, aux opérations suivantes: l'épillet est coupé en biais juste au dessus des étamines. Celles-ci sont ensuite aspirées au moyen d'une pipette pasteur reliée à une pompe à vide. La panicule ainsi castrée est aussitôt revêtue d'un manchon de papier sulfurisé. Cette préparation de la plante femelle peut avoir lieu la veille de la pollinisation, en fin d'après-midi, ou alors le jour même en début de matinée, pour éviter les pollutions possibles par le nuage pollinique.

La plante choisie comme mâle doit avoir au moins une panicule en pleine floraison. Les panicules des plantes mâles et femelles sont rapprochées sous le même sachet. Le tout est secoué plusieurs fois au cours de la première matinée. Les plantes, si besoin est, peuvent être séparées le soir même ou alors laissées deux-trois jours pour assurer un plus grand taux de fécondation.

Le rendement par cette méthode est en moyenne d'un caryopse obtenu pour 3 épillets castrés, le taux d'autofécondation illégitime étant inférieur à 5%. Une méthode permettant de s'affranchir de la pollinisation sur pied a été proposée par Taillebois (1988).

## **C. METHODES CULTURALES**

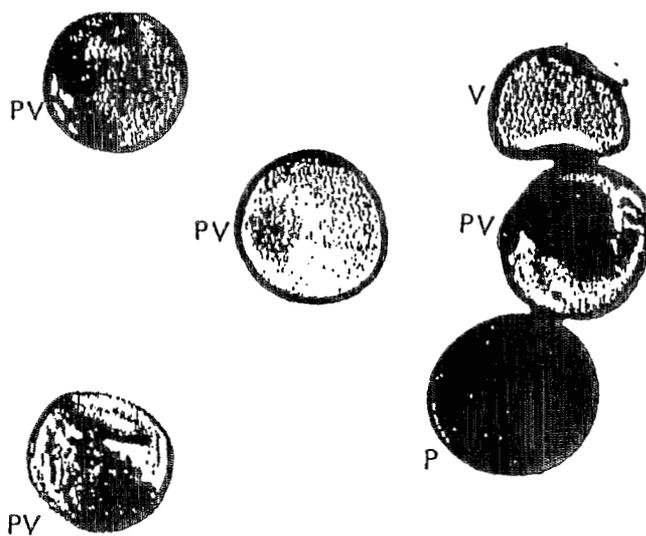
L'ensemble des essais présentés dans ce mémoire ont été réalisés à Adiopodoumé. Soit en champ, sous filet de protection contre les oiseaux, en conditions pluviales, ou alors en serre tunnel dans des bacs remplis d'eau, dans des conditions pseudo-irriguées.

Les itinéraires culturaux ont varié selon les essais, notamment en champ. Les variantes propres à chaque expérience seront précisées lors de leur présentation.

**Photo 5.**

Coloration au réactif d'Alexander (1969) de grains de pollen prélevés sur un hybride inter-*O.sativa* partiellement stérile. Nous avons distingué 3 types de grains: pleins (P), partiellement (PV) et complètement vides (V). Les grains (P) sont présumés fertiles, les autres stériles.

(Cliché Bruno Bougerol)



Les essais conduits en serre tunnel à Adiopodoumé ont respecté un itinéraire comun. Le semis est effectué en terrines ou boîtes de Petri, avec ou sans solution nutritive. Une fumure est apportée au moment du repiquage (NPK 10-18-18), puis toutes les 4 semaines environ (urée). Une protection phytosanitaire systématique est effectuée chaque semaine (Decis, Thymul).

## D. CARACTERES PHENOLOGIQUES ET MORPHOLOGIQUES

Les caractères suivants, qualifiés dans la suite d' "agromorphologiques", ont été mesurés sur les plantes à l'occasion des essais:

- Nombre de talles à 4 semaines (noté T4), 7 semaines (T7), à maturité (TAM)
- Délais semis-première épiaison (EPI)

Mesurés à la première épiaison:

- Hauteur (du sol à l'insertion de la feuille paniculaire, HAD))
- Longueur (LOD) et largeur (LAD) de la feuille paniculaire
- Diamètre de la tige ( moyenne de 3 tiges) mesuré au niveau du premier entre-noeud (MDIA)

La panicule est caractérisée à partir de la moyenne de données recueillies sur 3 panicules ensachées (autofécondation contrôlée).

- longueur de la panicule (LOP)
- nombre de ramifications primaires (RA1) et secondaires (RA2)
- nombre de grains (NGR)
- nombre d'insertions d'épillets (NIE)
- Les dimensions des grains résultent de la moyenne des mesures sur 10 grains: longueur (LOG), largeur (LAG), épaisseur (EPG).

## E. FERTILITES

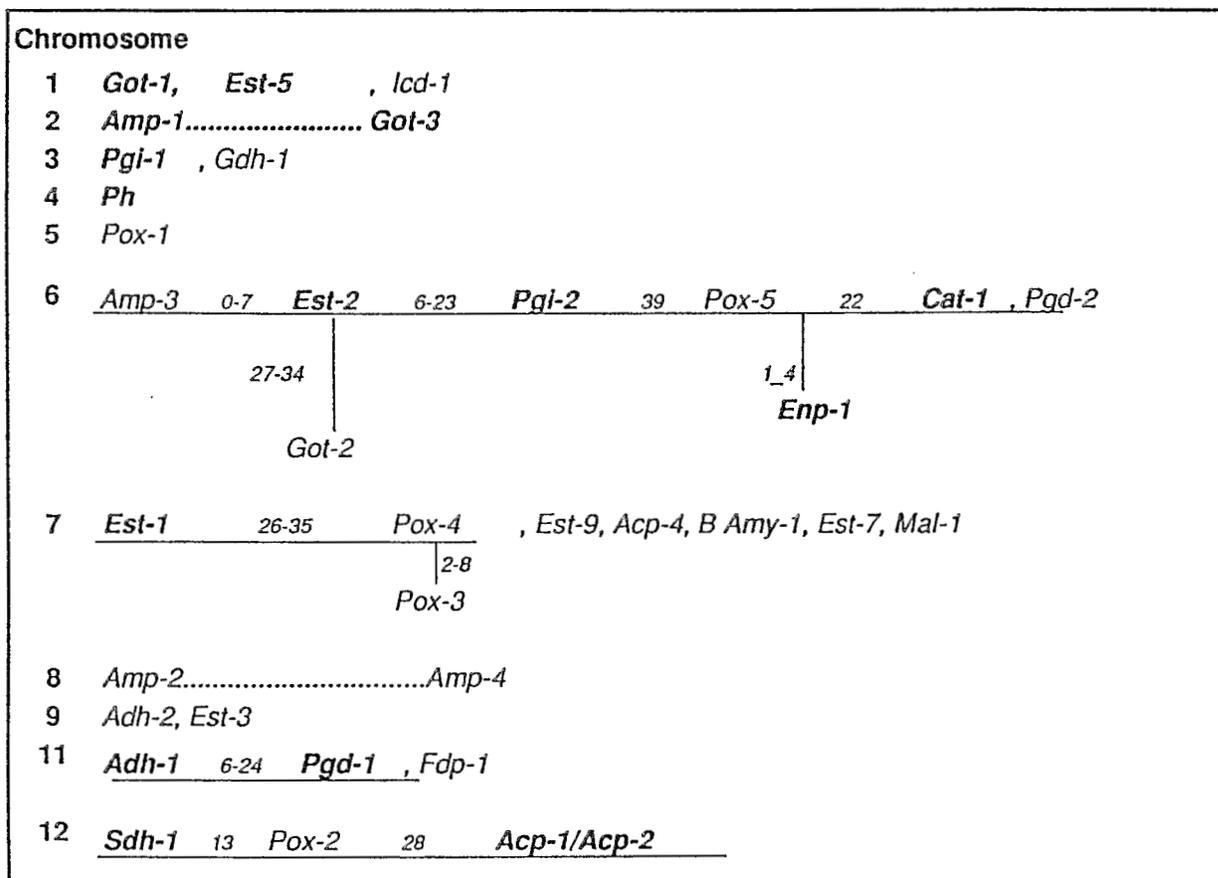
La fertilité paniculaire (*seed fertility* ou *spikelet fertility*) est définie comme le rapport du nombre de grains sur le nombre total d'insertions d'épillets.

La fertilité pollinique est approchée par une mesure de colorabilité du pollen (Pl.oto 5). En utilisant la méthode de coloration d'Alexander (1969), trois classes de

**Figure 8.**

Carte génétique des isozymes du riz (plus locus *Ph* de la réaction au phénol). Les locus utilisés dans ce mémoire sont en caractères gras.

\_\_\_\_\_ : liaison; ..... : indépendance



**Tableau 8.**

Numérotation unifiée des chromosomes du riz (génome A). Equivalence avec les anciennes nomenclatures (Rice Genetics Newsletter 1990).

Numéro du chromosome	Trisomiques		Caryotypes		Translocations	Groupe de linkage
	Khush et al. -1984	Iwata & Omura 1978	Kurata & Omura 1988	Wu & Chung 1988	Nishimura 1961	
1	1	O	K1	1	3	III
2	2	N	K2	3	8	X
3	4	M	K3	2	5	XI+XII
4	12	E	K4	4	11	II
5	5	L	K9	5	2	VI+IX
6	3	B	K6	6	6	I
7	7	F	K11	7(11)	10	IV
8	8	D	K7	9	12	sug
9	9	H	K10	8	1	V+VII
10	10	C	K12	10	7	fg1
11	11	G	K8	11(7)	9	VIII
12	6	A	K5	12	4	d-33

pollen ont été distinguées (Bougerol et Pham 1989): normal, partiellement rempli (appelé intermédiaire), vide. Cette distinction est beaucoup plus difficile avec la coloration au iodure de potassium traditionnellement utilisée par la plupart des généticiens japonais du riz. Environ 400 grains de pollen par plante ont été comptés.

## F. MARQUEURS GENETIQUES

### 1. Isozymes

Les méthodes d'extraction, migration et révélation sont celles décrites par Trouslot et Second (1980) et de Kochko (1987). Les analyses ont été restreintes aux locus dont la lecture des bandes correspondantes peut être faite sans ambiguïté, notamment dans les situations hétérozygotes.

Les différents systèmes enzymatiques étudiés sont: alcool déshydrogénase (*Adh*), 6-phosphogluconate déshydrogénase (*Pgd*), shikimate déshydrogénase (*Sdh*), phosphoglucose isomérase (*Pgi*), catalase (*Cat*), phosphatase acide (*Acp*), peroxydase (*Pox*), glutamate oxaloacetate transaminase (*Got*), estérase (*Est*) et aminopeptidase (*Amp*).

La localisation chromosomique de la plupart des locus marqueurs utilisés est connue. La Figure 8 présente l'état actuel des connaissances, dont certaines ont été acquises par l'étude de descendances F2 utilisées dans ce travail. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication commune avec le NIG, l'IRAT et l'IRRI (Pham et al. 1990, Annexe II). La nomenclature utilisée ici sera bien entendu la nomenclature unifiée adoptée dans cet article, aux dépens de celle adoptée jusqu'ici dans les publications du laboratoire de génétique de l'ORSTOM (Voir Table 3 dans l'Annexe II).

Quelques changements sont évidemment intervenus depuis la publication de cet article, tels que la localisation des locus *Est-1* et *Got-3*, et surtout l'adoption d'une nomenclature unifiée des chromosomes du génome A lors du Second International Rice Genetics Symposium. Là encore, nous adopterons cette nouvelle nomenclature. Les équivalences entre les différentes nomenclatures sont données dans le Tableau 8.

Les marqueurs utilisés se situent sur 8 des 12 chromosomes de base du génome A du riz. La distribution des marqueurs dans le génome est loin d'être homogène, le chromosome 6 étant sur-représenté par rapport aux autres.

## 2. Réaction au phénol

Immergées dans une solution de phénol à 2%, les glumelles de grains de riz présentent deux réactions possibles: noircissement (réaction positive "+"), ou absence de coloration (réaction négative "-"). Le locus *Ph* de la réaction au phénol est situé sur le chromosome 4.

## 3. Autres marqueurs

La variété *O. glaberrima* WO25 possède un apiculus du grain pigmenté rouge de même que la variété YS309. Suivant Sano et al. (1979), nous considérerons WO25 comme possédant l'allèle C. ES70-6, SS404 et YS45-1, variétés qui lui seront confrontées dans l'étude des rétrocroisements interspécifiques, possédant pour leur part l'allèle C<sup>+</sup>. Le locus C est situé sur le chromosome 6 et est lié "étroitement" (Sano 1986) au gène d'interaction sporogamétophytique *S-1*. Les locus C et *Est-2* sont distants d'environ 9 centimorgans sur le chromosome 6 (numéroté n°3 sur la carte génétique publiée dans Rice Genetics Newsletter 1987).

## G. ANALYSES STATISTIQUES

### 1. Méthodes générales

La plupart des analyses ont été conduites sur micro-ordinateur avec le logiciel NDMS (Bibliothèque de programmes statistiques, Michel Noirot, ORSTOM).

\* Analyses de la variance, précédées de tests d'homogénéité des variances (test de Bartlett)

\* Analyses multivariées:

-Analyse en composantes principales (ACP)

-Analyse factorielle des correspondances (AFC)

-Classification ascendante hiérarchique (CAH), (critère de la variance)

Les méthodes utilisées pour l'analyse des ségrégations sont détaillées ci-dessous.

## 2. Analyse des ségrégations

### a. Ségrégations F2

Les ségrégations mono-locus sont tout d'abord comparées aux proportions mendéliennes attendues (test  $\chi^2$ ). Les fréquences alléliques dans la population gamétique de l'hybride F1 sont estimées à partir des fréquences génotypiques en F2. Dans le cas où la présence d'un allèle nul ne permet pas de distinguer les génotypes hétérozygote et homozygote dominant, la fréquence de l'allèle récessif est estimée par  $P^{1/2}$ , où P est la fréquence du génotype homozygote récessif. L'égalité des fréquences alléliques est testée (test  $\chi^2$ ).

Pour les ségrégations avec allèles codominants, la distribution des génotypes en F2 est testée par rapport à une distribution théorique  $p^2:2pq:q^2$ , où p et q sont les fréquences alléliques observées (test  $\chi^2$ ). Les écarts à cette proportion s'interprètent par une association non aléatoire des gamètes ou par une sélection sur le zygote intervenant entre la fécondation et le prélèvement des échantillons pour l'électrophorèse.

Il est dès maintenant à souligner que la puissance des tests employés est fonction du nombre d'individus analysés. Ainsi, les écarts aux proportions mendéliennes ne peuvent se révéler significatifs qu'à partir d'un certain taux de distorsion.

### b. Ségrégations en rétrocroisements

Les effectifs étudiés dans les descendances de rétrocroisements ont été de taille souvent réduite, notamment dans l'étude des rétrocroisements interspécifiques. Nous avons suivi Sokal et Rohlf (1981) dans le choix des différents tests.

La conformité des ségrégations mono-locus aux proportions mendéliennes attendues a été vérifiée par le test binomial pour les descendances d'effectifs inférieurs à 25, par le test  $\chi^2$  avec correction de continuité pour les descendances d'effectifs compris entre 25 et 200.



## DEUXIEME PARTIE

**Diversité d'*Oryza sativa* révélée  
par hybridation intra- et interspécifique**



## Chapitre IV. INTRODUCTION A LA SECONDE PARTIE

Comment s'organisent les variétés d'*O. sativa* dans l'échantillon choisi ? L'observation de barrières reproductives permet-elle d'opérer une classification dans cet échantillon, et si oui, retrouve-t-on une classification établie sur d'autres critères ? Peut-on quantifier ces barrières reproductives ? Quelles sont les relations entre ces variétés et *O. glaberrima* ? L'espèce africaine peut elle révéler une variabilité intéressante chez *O. sativa* ?

Des éléments de réponse à ces questions seront recherchés par l'observation des hybrides F1 (fertilité, morphologie), puis des ségrégations de marqueurs génétiques (isozymes) à la génération suivante (F2 ou rétrocroisements).



## **Chapitre V. LES HYBRIDES F1 ENTRE VARIETES D'*O. SATIVA***

La stérilité F1 est, avec le phénomène beaucoup plus rare de faiblesse hybride, la plus immédiate des barrières reproductives dans les croisements intervariétaux chez *O. sativa* et à plus fort titre dans les croisements entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. Elle est en effet accessible par une simple observation visuelle des panicules.

Pourquoi s'intéresser au niveau de stérilité des hybrides F1 ?:

- Dans le cas où la stérilité est très forte, l'obtention d'une génération F2 par autofécondation s'en trouve compliquée, voir inhibée dans le cas des croisements entre les 2 espèces cultivées. Le schéma de sélection traditionnel s'en trouve perturbé.
- Le niveau de stérilité peut être le symptôme d'autres difficultés, qu'elles lui soient directement liées ou non, dans l'exploitation de croisements distants.
- Ce fut, nous l'avons écrit, le niveau d'observation conduisant Kato (1930) à la dichotomie *indica-japonica* chez *O. sativa*.
- La stérilité hybride peut être, chez *O. sativa*, considérée *a priori* comme une indication de distance génétique entre génotypes, et donc susceptible d'être un critère de classification .

Cette partie présentera tout d'abord les résultats obtenus lors de l'étude des hybrides de première génération issus du tableau quasi complet de croisements entre les 12 variétés africaines d'*O. sativa*. Les hybrides F<sub>1</sub> seront étudiés pour leur fertilité. La classification obtenue à partir de ces données sera comparée à celle basée sur d'autres critères. Les caractères agromorphologiques seront également considérés.

## A. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Un tableau de croisement 12 x 11 a été réalisé à partir des 12 variétés africaines d'*O. sativa*. La variété 2LS102 est intervenue seulement comme parent femelle du fait de la non-réalisation de certains croisements.

L'essai s'est déroulé en serre tunnel à Adiopodoumé. Les grains F<sub>1</sub> ont été décortiqués puis désinfectés avec une solution d'hypochlorite de soude, puis mis à germer en boîtes de Petri avec de la solution nutritive. Les plantules ont été repiquées une semaine plus tard dans des pots de 2 litres.

Quatre plantules par génotype (hybrides et parents) ont été intégrées dans le dispositif expérimental, consistant en un bloc totalement randomisé, à raison de 16 rangées de 4 pots par bac, avec une rangée de pots "bordures" de chaque côté du bac. Cependant, des plantules présumées hybrides se sont révélées être issues de croisements ratés, c'est à dire d'autofécondations. Les effectifs de certaines combinaisons sont par conséquent inférieurs à 4, voire nuls. Dans le cas de combinaisons manquantes, la valeur de la fertilité a été remplacée par celle de l'hybride réciproque.

Les résultats se présentent sous la forme d'un tableau à deux entrées où chaque case donne la fertilité moyenne d'une combinaison F<sub>1</sub>, issue d'un parent femelle (ligne) et d'un parent mâle (colonne).

On appellera profil de compatibilité hybride l'ensemble des fertilités F<sub>1</sub> observées pour un génotype parental donné. Selon que l'on identifiera ou non les géniteurs en combinaison, on distinguera le profil spécifique ou le profil général. Ainsi, en découpant l'intervalle 0-100% en *i* classes et en répertoriant le nombre de combinaisons hybrides obtenues par classe, on obtient pour chaque variété deux profils généraux de compatibilité hybride (mâle et femelle).

Le tableau de données a été traité par analyse factorielle des correspondances. Il est ainsi possible d'obtenir une représentation simultanée des variétés considérées comme géniteurs mâles (individus) et comme géniteurs femelles (variables).

Pour classer simultanément les variétés pour leur comportement mâle et femelle, ou pour obtenir une classification synthétique des variétés, il faut accoler le tableau initial et son tableau transposé. Il est alors nécessaire de se priver d'une

information: la fertilité des variétés prises comme parent mâle face à la variété 2LS102 femelle.

Pour l'analyse des profils généraux, un tableau a été constitué où chaque ligne représente une variété, considérée comme parent mâle ou parent femelle, par son profil général tel qu'il a été défini plus haut (chaque colonne représente une classe de fertilité). Pour cette analyse, nous avons utilisé 5 classes de fertilité d'amplitude égale (0-20, 20-40,...). Ce tableau a été soumis à une AFC, puis les variétés ont été classées par une CAH sur les 4 premiers facteurs obtenus.

## **B. RESULTATS**

### **1. Réussite des croisements**

Les mêmes croisements ont été répétés à diverses périodes de l'année et ont parfois donné des résultats très différents quant au nombre de caryopses obtenus. Il nous est ici impossible de comparer rigoureusement les taux de réussite des hybridations. La seule conclusion importante est qu'il n'est pas apparu de combinaison ayant posé de problème particulier pour l'obtention de grains  $F_1$ .

### **2. Taux de germination et de reprise au repiquage**

Le taux moyen de germination des caryopses  $F_1$  est de 71%, taux inférieur à celui des grains récoltés sur les lignées parentales qui avoisine les 100%. Cependant, aucun effet du génotype n'est détectable pour ce caractère qui est relativement variable, à génotype identique, d'un lot de caryopses à l'autre. Sans doute les conditions de maturation du caryopse ont-elles une influence sur le taux de germination, l'épillet castré puis pollinisé étant très vraisemblablement plus sensible aux variations de l'environnement que l'épillet intact.

Les pertes après la germination sont très faibles (<3%) et ne concernent pas de combinaisons particulières.

L'aspect général des hybrides  $F_1$  est bon. Aucune faiblesse d'hybrides n'est constatée. Cette observation confirme la rareté de cette barrière reproductive chez *O. sativa* (voir page 38).

**Tableau 10**

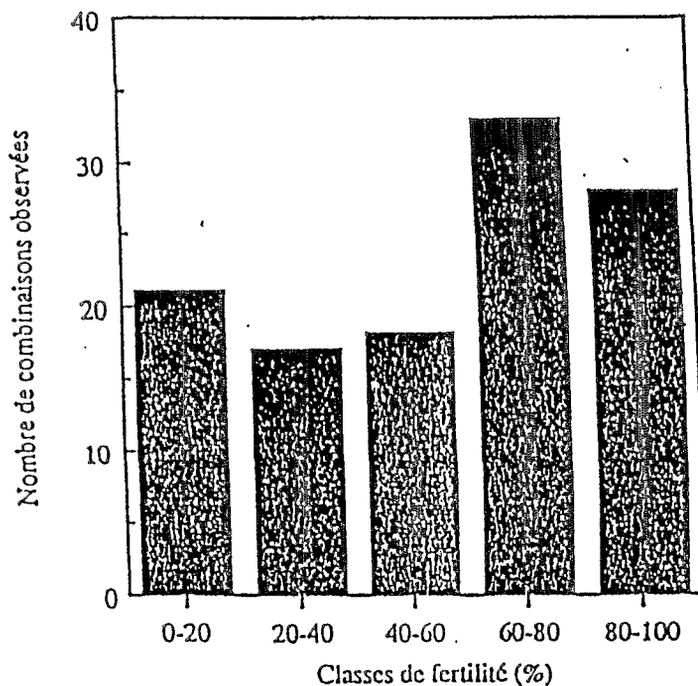
Fertilité paniculaire moyenne des hybrides F1 et des lignées parentales (diagonale)

Femelle	Mâle											
	ES 70-6	YS 138-3	YS 252-1	YS 45-1	BS 117	BS 125	ES 44	ES 79	SS 404	BS 20	YS 309	2LS 102
ES70-6	87	83	82	70	<i>12</i>	16	39	58	35	60	26	•
YS138-3	84	76	87	84	32	<i>34</i>	29	48	34	87	29	•
YS252-1	67	85	88	84	67	<i>70</i>	73	47	<b>81</b>	80	70	•
YS45-1	74	•	89	88	73	<i>51</i>	67	83	65	79	16	•
BS117	0	0	.5	<i>43</i>	87	75	80	79	81	<b>40</b>	.2	•
BS125	7	9	<i>41</i>	17	88	84	<i>64</i>	74	66	<b>53</b>	2	•
ES44	85	11	38	21	90	<i>44</i>	75	87	86	63	20	•
ES79	0	45	.5	9	84	74	78	73	85	•	23	•
SS404	43	50	60	74	89	81	90	90	77	64	9	•
BS20	57	•	79	83	<i>64</i>	85	•	57	60	90	72	•
YS309	33	30	43	28	18	12	54	17	19	74	72	•
2LS102	44	15	27	29	71	78	68	65	65	92	51	81

Les différences entre croisements réciproques sont indiquées en italiques gras.

**Figure 10**

Répartition des combinaisons F1 par classe de fertilité



### 3. Fertilités paniculaires

Le Tableau 10 présente les fertilités paniculaires observées pour les hybrides F<sub>1</sub> et parents autofécondés.

Deux remarques s'imposent avant l'examen détaillé des résultats:

- les fertilités des lignées parentales, théoriquement voisines de 100%, sont l'indicateur de la validité de la méthode de mesure. Elles varient de 72 à 90%. Ceci confirme que l'ensachage perturbe la fécondation (Montenarie 1986), mais dans des limites acceptables compte tenu de la sécurité apportée par l'élimination des allofécondations pour l'étude de la génération suivante.

- et surtout, les fertilités observées recouvrent un domaine de valeurs étendu (0 à 90%), et le recouvrent de façon suffisamment homogène (Figure 10) pour apporter un nombre important d'observations à chaque niveau de fertilité. La diversité des variétés choisies pour cette étude se traduit donc par une diversité des situations observées.

#### a) Effet du sens de croisement

La différence de fertilité entre hybrides réciproques a été considérée comme significative à partir de 20% d'écart, ce qui correspond à la différence maximale de fertilité observée entre lignées parentales. On recense 17 combinaisons (Tableau 10) où se manifeste un effet du sens de croisement, ce qui correspond à environ un tiers des 53 couples de variétés étudiés.

#### b) Profils spécifiques

L'analyse du tableau de données résultant de l'accolement bout à bout du tableau de données 12x11 et de son tableau transposé permet d'obtenir tout d'abord une classification synthétique des variétés (à l'exception de 2LS102) prenant en compte leur profils de fertilité mâle et femelle, puis de classer les variétés en individualisant ces 2 profils.

Une CAH sur les coordonnées sur les 4 premiers axes de l'AFC (qui représentent respectivement 61.3%, 16.2%, 5.6% et 5.4% de l'inertie globale) permet une première classification synthétique des variétés (Figure 11a). Une partition extrêmement claire en 2 groupes apparaît: d'un côté les variétés ES70-6, YS138-3, YS45-1, YS252-1, YS309 et BS20, de l'autre les variétés SS404, ES44, ES79,

Figure 11a.

Classification synthétique des variétés pour leur compatibilité hybride.

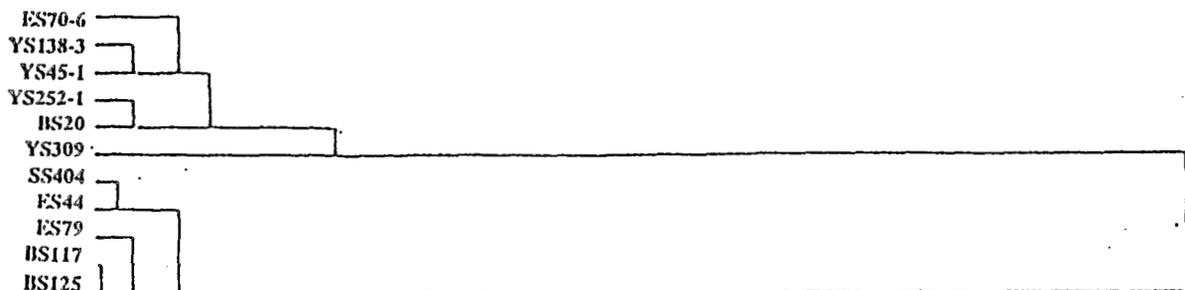
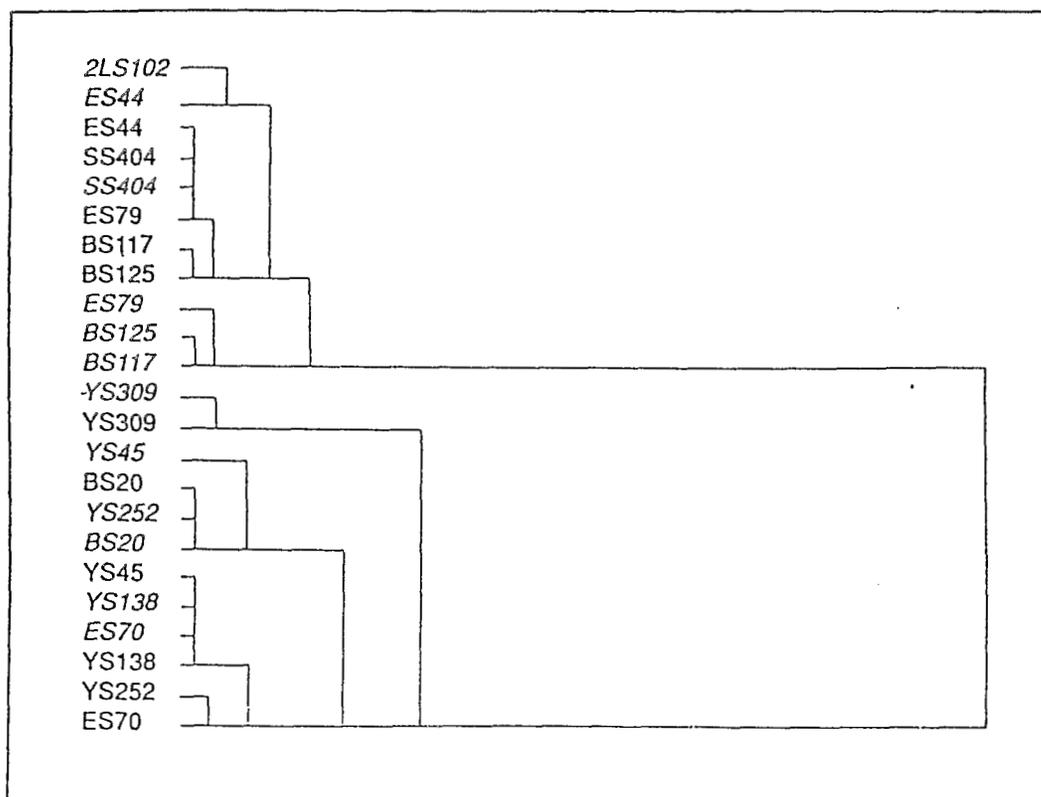


Figure 11b.

Classification des variétés pour leur comportement en croisement.

Caractères normaux: variétés prises comme parents mâles

Italique : variétés prises comme parents femelles.



BS117, BS125. Nous appellerons ces 2 groupes J et I car le premier ne contient, à l'exception de BS20, que des variétés enzymatiquement classées *japonica* tandis que le second ne comprend que des variétés enzymatiquement classées *indica*. L'examen de la signification des axes de l'AFC, et notamment de l'axe 1 qui représente à lui seul plus de 60% de la variabilité totale montre que ces groupes correspondent à deux réactions globalement opposées : les parents engendrant les hybrides les plus fertiles avec les variétés *japonica* s'opposent à ceux produisant les hybrides les plus fertiles avec les variétés *indica*.

Cette partition en deux grands ensembles est-elle la même selon que l'on s'intéresse au comportement mâle ou femelle des variétés ? Le dendrogramme présenté sur la Figure 11b apporte une réponse sans ambiguïté à cette question. Là encore, deux grands groupes sont évidents. On constate que pour toutes les variétés, l'appartenance à un groupe est la même quel que soit le sens de croisement considéré. Cette analyse montre par ailleurs que 2LS102 se classe parmi les variétés *indica*, en accord avec la classification enzymatique.

Intéressons nous maintenant à la classification à l'intérieur de chacun de ces grands groupes. Le plan défini par les 2 premiers axes de l'AFC sur le tableau 12 X 11 illustre relativement bien les résultats (Figure 12).

L'ensemble J se scinde en 3 parties d'importances inégales:

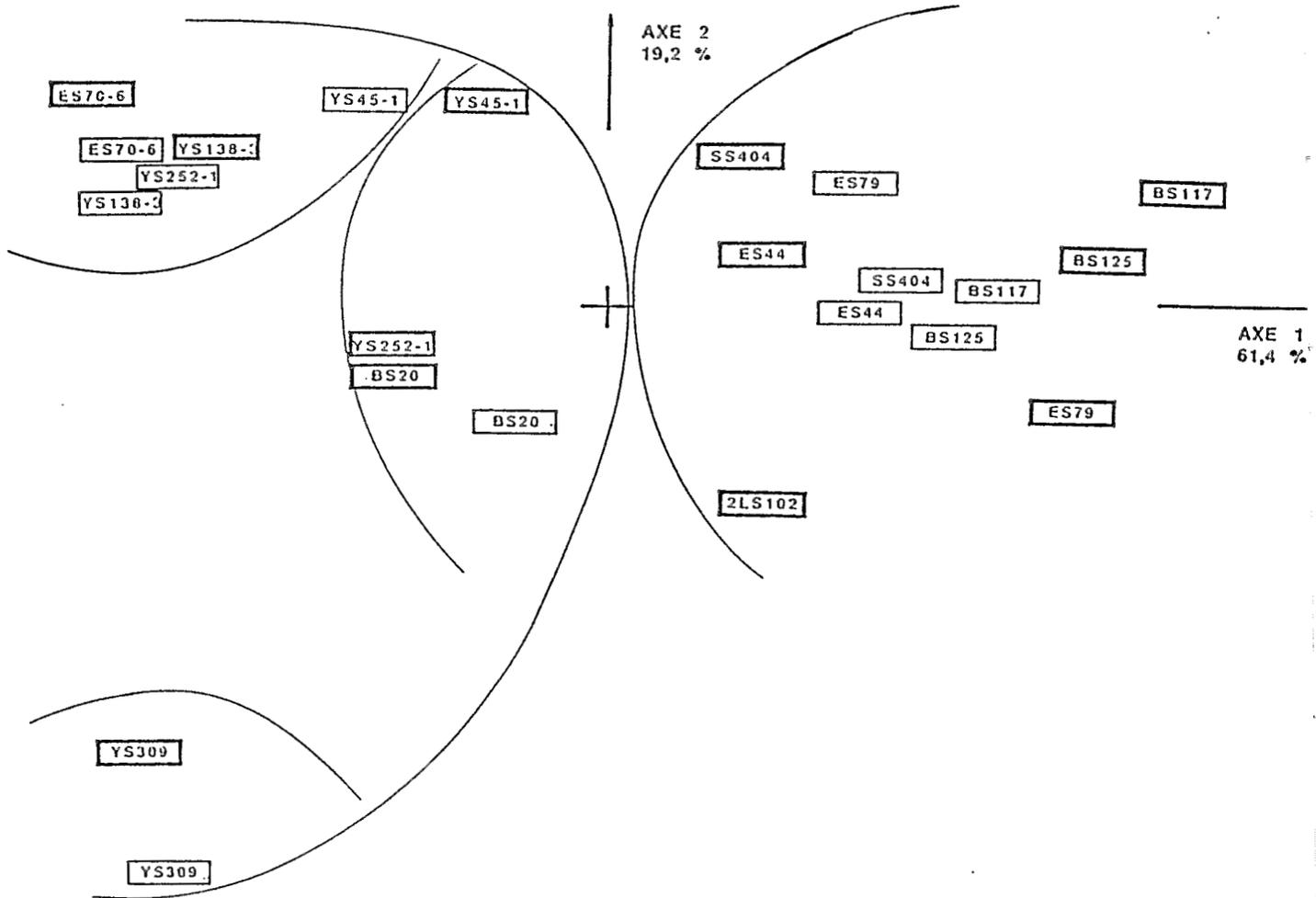
- YS309 tout d'abord, tant comme mâle que comme femelle, s'individualise fortement sur l'axe 2.
- BS20 (mâle et femelle) et YS252-1 (femelle) sont très proches. YS45-1 (femelle) se rattache à cet ensemble.
- le dernier ensemble rassemble ES70-6 et YS138-3 (mâle et femelle), YS45-1 et YS252-1 (mâle).

En regardant le tableau de résultats (Tableau 10) d'une part, et les profils généraux d'autre part (Figure 13), les caractéristiques de chacun de ces ensembles apparaissent:

- YS309 a un profil général très marqué par les faibles valeurs de fertilité, ce qui signifie que cette variété n'engendre quasiment que des hybrides de faible fertilité.
- à l'inverse, le deuxième groupe comprend des variétés que l'on peut qualifier de variétés largement compatibles. Seul BS20 est largement

Figure 12.

Plan défini par les deux premiers axes de l'AFC sur le tableau de fertilité des hybrides F1. Les cadres en noir épais indiquent les variétés prises comme parent femelle, en noir simple comme mâle.



**Figure 13.**

Profils généraux de compatibilité hybride pour les variétés d'*O. sativa*, considérées séparément comme parent mâle et parent femelle.

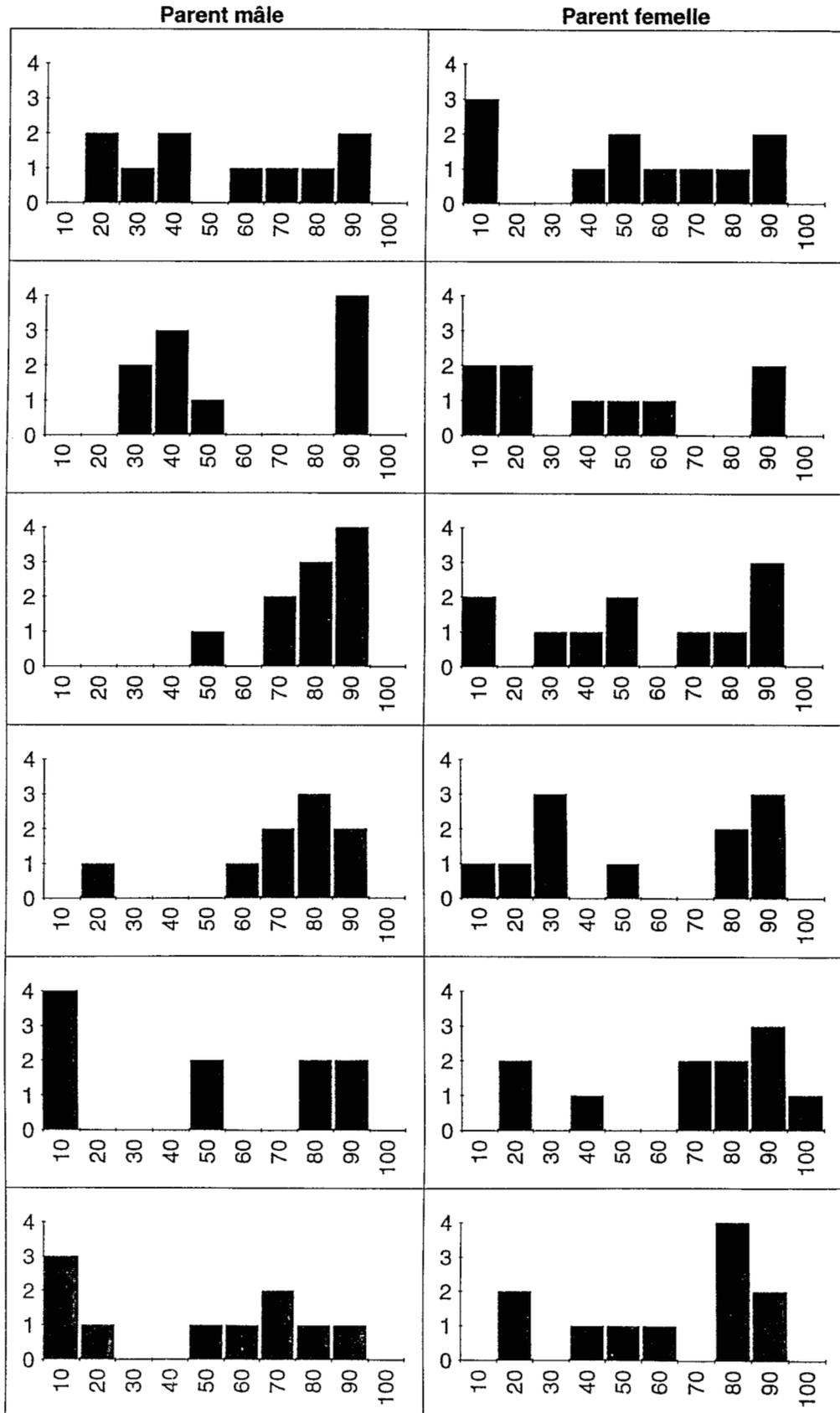
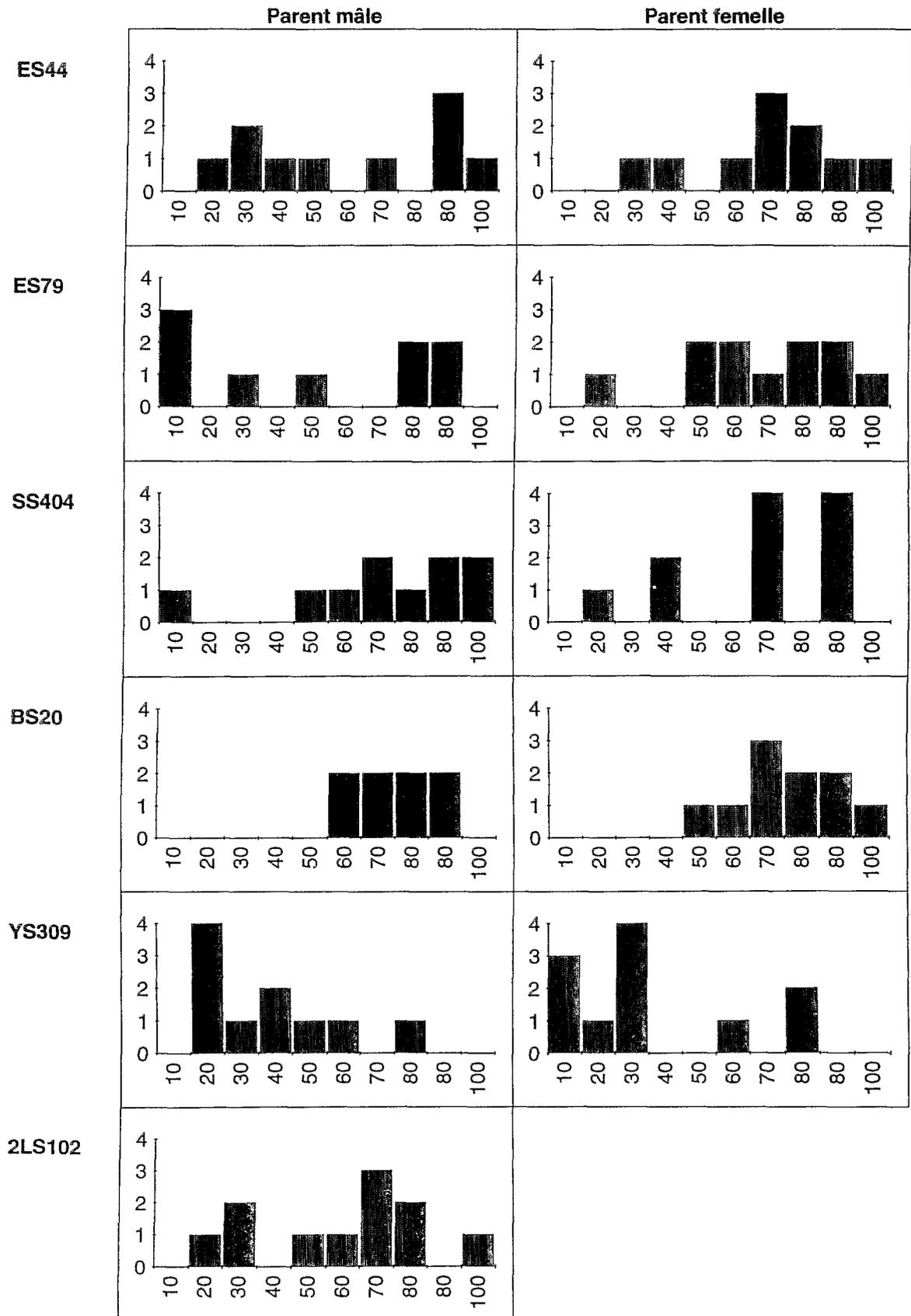


Figure 13 (suite)

Profils généraux de compatibilité hybride pour les variétés d'*O. sativa*, considérées séparément comme parent mâle et parent femelle.



compatible dans les 2 sens de croisements. La différence de comportement entre BS20 et YS309 apparaît bien sur la Figure 14.

- enfin, la troisième subdivision comprend les variétés qu'on peut qualifier de *japonica* "classiques", c'est-à-dire engendrant des hybrides intra-*japonica* fertiles et des hybrides avec *indica* stériles.

Les différences entre comportement mâle et femelle jouent un rôle évident dans la partition du groupe I. Considérées comme mâles, BS125, ES44, SS404 et BS117 sont regroupés en un ensemble remarquablement homogène (Figure 11b), alors que la dispersion de ces variétés est plus importante lorsqu'elles sont prises comme femelles. Une structuration en deux sous-groupes se dessine alors avec d'un côté ES79, BS125 et BS117, et de l'autre ES44 et SS404 (plus 2LS102).

Le premier de ces sous-groupes correspond à des variétés présentant un pic de valeurs faibles de fertilités  $F_1$ , correspondant à des réactions extrêmement marquées avec les variétés *japonica*, notamment ES70-6. ES44 et SS404 présentent pour leur part des profils étalés, plus orientés vers des valeurs moyennes ou fortes.

#### 4. Profils généraux

L'examen des profils généraux tend à faire penser que certaines formes de profil ne sont pas spécifiques aux variétés *indica* ou *japonica*, mais qu'au contraire des génotypes éloignés peuvent présenter des profils semblables.

Les 4 premiers facteurs de l'AFC extraient 100% de la variabilité totale.

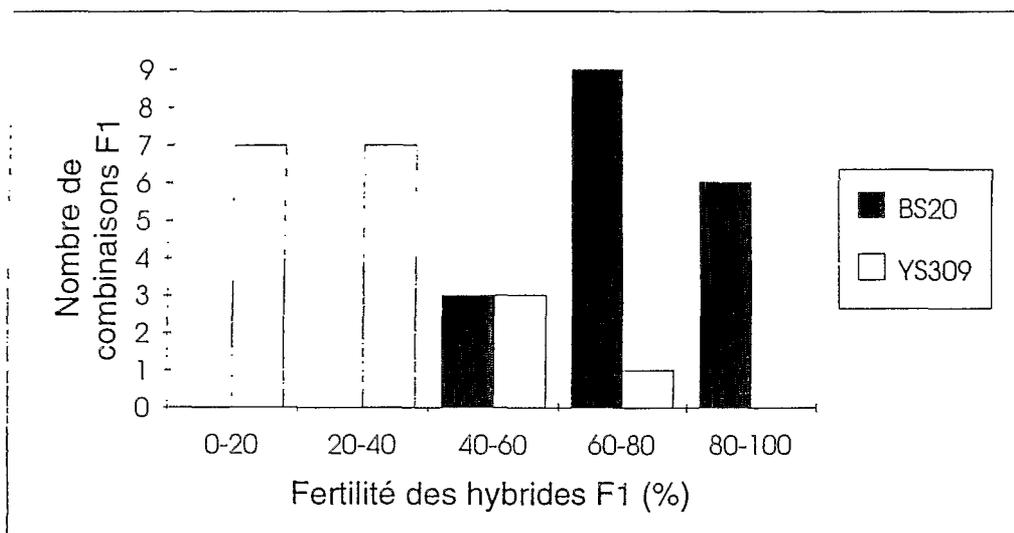
La Figure 15 présente le dendrogramme issu de la CAH. Deux groupes sont mis en évidence.

Le premier groupe est constitué de variétés présentant un nombre important de combinaisons de faible fertilité. Ce groupe se scinde en 3 parties:

- Le premier comprend des variétés au profil étalé présentant à la fois des valeurs faibles et élevées. Une seule variété *indica*, ES44, y figure.
- Le second est représenté par YS309, que l'on retrouve individualisé du fait de ses profils à tendance faible.
- Enfin, un troisième sous-groupe rassemble les variétés possédant un pic de faibles fertilités. C'est le sous-groupe dans lequel sont regroupés les

**Figure 14.**

Comparaison des profils généraux de compatibilité hybride de BS20 et YS309.



**Figure 15.**

Classification des variétés pour leurs profils généraux de compatibilité hybride.  
 Caractères normaux: variétés prises comme parents mâles  
 Italique gras: variétés prises comme parents femelles.

- ES70-6
- YS45-1
- YS252-1
- ES44**
- YS138-3**
- YS309
- YS309
- YS138-3
- BS117**
- BS125**
- BS125
- ES79**
- ES70-6
- SS404
- BS117
- 2LS102**
- ES44
- YS45-1**
- YS252-1**
- BS20**
- BS20
- SS404
- ES79

génotypes générant les réactions *indica-japonica* les plus marquées: YS138-3, ES70-6 opposés à BS117, BS125 et ES79.

Le second groupe est constitué des variétés possédant des profils orientés vers les valeurs élevées:

- Le premier sous-groupe comprend des variétés engendrant également des F<sub>1</sub> peu fertiles. Il ne comprend que des variétés *indica*.
- Le deuxième sous-groupe associe aux variétés déjà identifiées comme largement compatibles deux parents *indica* dont les profils sont orientés vers les fortes valeurs de fertilité (SS404 femelle et ES79 mâle).

Ce type d'analyse semble intéressant dans la mesure où il donne des variétés une image différente de la séparation *indica-japonica* habituelle. Il semble possible de chercher une typologie du comportement en croisement, dont on peut supposer qu'il donne des renseignements sur les mécanismes génétiques en jeu.

Il conviendrait cependant d'augmenter le nombre de variétés confrontées aux variétés étudiées afin d'accentuer et confirmer les tendances observées. En particulier, la nette bimodalité de certains profils (tel celui de YS138-3 mâle) demanderait à être confirmée pour vérifier qu'il ne s'agit pas d'un simple hasard des distributions.

## 5. Caractères agromorphologiques

### a) Méthodes

Les effectifs en jeu n'étant pas suffisants pour conduire une analyse fine des caractères, l'étude a été conduite dans le but d'évaluer globalement l'importance des effets réciproques et des effets de transgression.

Le fichier des valeurs moyennes (parents et F1) a été soumis à une ACP, puis à une CAH sur les coordonnées factorielles. Le dendrogramme a fait apparaître différents groupes où ont été situés les lignées parentales d'une part et les hybrides F1 d'autre part. On interprète l'appartenance d'hybrides F1 réciproques à 2 groupes différents comme un effet réciproque, la classification d'un hybride F1 dans un groupe différent de celui ou ceux des parents comme une transgression.

**Tableau 11.**

Définition des 4 premiers axes de l'ACP sur les hybrides F1  
(%de l'inertie totale et corrélation des principales variables avec les axes)

	Axe 1 36.9%	Axe 2 31.3%	Axe 3 10.1%	Axe 4 8.5%
EPI		-0.61	0.57	
HAD			0.68	
LAD	0.88			
LOD		0.77		
LLD				
ARD	0.76			
T70	-0.90			
TAM	0.93			
EPT	0.71			
LOP			0.55	0.74
RA1	0.83			
RA2		0.82		
R21		0.84		
NIE	0.73	0.63		
LNIE		0.76		
DPA	0.71			
NILO	0.70	0.61		
RDT		0.86		

**Tableau 12.**

Classement des combinaisons F1 dans les 3 groupes issues de la CAH sur les coordonnées factorielles de l'ACP. Le chiffre entre parenthèse est celui obtenu en assimilant les variétés introgressées à des variétés *japonica*.

Parents confrontés	Total	Affectation des hybrides réciproques		F1 dans groupe différent des parents
		groupes différents	groupes identiques	
<i>indica</i> / <i>indica</i>	10	4	6	6
<i>indica</i> / <i>japonica</i>	22 (30)	6 (8)	16 (20)	5 (9)
<i>japonica</i> / <i>japonica</i>	5 (13)	2 (7)	3 (6)	3 (3)
<i>indica</i> / introgressé	8	2	6	4
<i>japonica</i> / introgressé	7	5	2	0
introgressé / introgressé	1	0	1	0
<i>Total</i>	53	19	34	18

## b) Résultats

Le Tableau 11 indique la signification et l'interprétation des axes issus de l'ACP. Les résultats des classifications sont résumés dans le Tableau 12. La première information apportée par ce tableau concerne l'importance quantitative des effets réciproques puisque 19 combinaisons sur 53 présentent un classement différent des hybrides réciproques. Cette proportion correspond à peu près à celle observée pour les fertilités paniculaires et confirme donc l'importance des effets cytoplasmiques.

La proportion de combinaisons présentant de tels effets réciproques n'apparaît pas varier significativement d'un type de croisements à un autre (Tableau 12). Seul le groupe des croisements *japonica*/variétés "introgressées" présente une proportion plus élevée d'effets réciproques. On aurait plutôt attendu une importance accrue de ces effets dans les combinaisons impliquant des variétés *indica* puisque ce sont celles pour lesquelles une variabilité cytoplasmique est directement mise en évidence.

Si l'on considère maintenant le nombre de combinaisons F1 classées dans un groupe différent de celui des parents (appelées dans les lignes qui suivent "transgressives"), des différences relativement nettes apparaissent. Ainsi, les variétés introgressées n'engendrent aucun hybride transgressif quand elles sont croisées avec les variétés *japonica* contrairement aux hybrides issus des croisements avec les variétés *indica*. Les variétés *indica* apparaissent d'ailleurs plus susceptibles de générer des hybrides transgressifs puisque la proportion de tels hybrides dans les croisements intra-*indica* est plus élevée que dans les croisements intra-*japonica* ou même que dans les croisements *indica-japonica*.

## C. DISCUSSION

### 1. La dichotomie *indica/japonica* et la classification enzymatique

Le premier enseignement de cette étude est la claire dichotomie observée parmi les 12 variétés. Si des subdivisions sont observées à l'intérieur de chacun des groupes, leur existence n'affaiblit pas la netteté de la partition en 2 groupes que l'on peut qualifier d'ensemble *indica* et d'ensemble *japonica* d'après leur composition.

En effet, la classification obtenue correspond presque exactement à celle basée sur les critères enzymatiques. La seule exception étant l'appartenance de BS20

à l'ensemble des variétés *japonica*, alors que le profil enzymatique de BS20 la classe dans la sous-espèce *indica*.

On peut même pousser plus loin que la simple partition *indica/japonica* la superposition entre les deux types de classification. En effet, comme nous l'avons écrit plus haut (page 53), la classification enzymatique affecte YS45-1 et YS252-1 dans le même groupe, ainsi que YS138-3 et ES70-6. Or ces groupes sont à nouveau mis en évidence à partir de l'analyse des fertilités. Bien que les effectifs classés soient trop faibles pour écarter la possibilité d'une simple coïncidence, cette superposition est intéressante. En revanche, pour les variétés *indica*, il s'avère vain de chercher une correspondance entre la classification enzymatique et la classification sur les fertilités hybrides. On peut voir dans cette inefficacité de l'analyse enzymatique une confirmation de l'importance du facteur cytoplasme pour l'étude de ces variétés.

Revenons sur l'exception observée, BS20. Si cette variété est classée enzymatiquement *indica*, elle présente une réaction au phénol négative, considérée comme caractéristique de la sous-espèce *japonica*. Sur ce critère, BS20 n'apparaît donc plus mal classée parmi les variétés à affinité de type *japonica*. Par contre, si on considère à nouveau la réaction au phénol, YS309 apparaît alors mal classée parmi les variétés *japonica* puisque présentant une réaction au phénol positive, caractéristique des *indica*.

Les différences de fertilité entre hybrides réciproques apparaissent plus fréquentes dans l'échantillon étudié qu'il n'est couramment rapporté (Clément et Poisson 1986a), puisqu'elles concernent environ un tiers des croisements observés. De ces différences résulte une classification différente des variétés *indica* selon le sens du croisement. Ces variétés apparaissent extrêmement homogènes quand on les classe pour leur comportement mâle. Cela pourrait signifier que les systèmes de stérilité en jeu sont identiques d'une variété à l'autre. Cela signifie également que les variétés *japonica*, prises comme parents femelles, ne sont pas discriminantes.

Il faut sans doute attribuer moins d'importance à la partition de l'ensemble *indica* en deux groupes qu'à l'existence même d'une division. Le nombre de variétés en jeu est ici trop faible pour conclure à l'existence réelle de 2 types de comportement. Les réactions extrêmes manifestées par BS125 et BS117 comme parent femelle laissent supposer une variabilité cytoplasmique des variétés *indica*.

De même que pour le groupe *indica*, la structuration du groupe *japonica* est liée à la différence mâle-femelle. Le profil des quatre variétés *japonica* ES70-6, YS138-3, YS252-1, et à un moindre titre YS45-1, est très homogène pour le comportement mâle, tandis que, comme on l'a vu plus haut, l'ensemble se scinde pour le comportement femelle entre les variétés largement compatibles YS252-1 et YS45-1 d'une part, et ES70-6 et YS138-3 d'autre part. Ces dernières s'apparentent ainsi au groupe G4 (Clément et Poisson 1986a) dans la classification de Jacquot et Arnaud (1979).

## 2. Les variétés à compatibilité large

Nous avons vu que seule la variété BS20 peut être dite largement compatible dans les deux sens de croisement, tandis que YS45-1 et YS252-1 ne le sont qu'en tant que géniteurs femelles.

BS20 est un type aus. Nous retrouvons là une confirmation du type largement compatible de cette classe de variétés. Clément et Poisson (1986a), sur un plus grand nombre de variétés confrontées (mais dans un seul sens de croisement), parviennent à la même conclusion.

Nos observations sur la compatibilité des variétés *japonica* YS45-1 et YS252-1 rejoignent là encore celles de Clément et Poisson (1986a) qui décrivent la compatibilité hybride des variétés *japonica* du groupe G3 (telle la variété ivoirienne Moroberekan) vis à vis de variétés *indica*. Cependant, ces auteurs n'ont effectué les croisements que dans le sens *japonica* femelle/*indica* mâle et leur conclusion sur l'extension de l'aptitude à une large compatibilité à l'ensemble du groupe G3 doit être tempérée. Il est clair que ces variétés *japonica* compatibles ne le sont pas au même titre que les variétés aus. Il serait sans doute souhaitable, pour éviter toute confusion, d'affecter un qualificatif différent aux variétés largement compatibles dans les 2 sens du croisement, et à celles qui le sont dans un seul sens. Cela ne signifie d'ailleurs pas qu'il y ait identité des mécanismes génétiques parmi ces dernières. En effet, YS45-1 réagit différemment de YS252-1 lorsque ces génotypes sont confrontées à YS309. Clément et Poisson (1986a) évoquent également des mécanismes différents entre variétés bulu et aus.

La variété YS309 peut être qualifiée de variété à compatibilité étroite. On remarque que cette non-compatibilité est rompue par des variétés largement compatibles comme BS20 et YS252-1. Un rôle pourrait être proposé à YS309, celui de variété test pour détecter des variétés largement compatibles.

On notera enfin à propos des variétés "javanica" que celles-ci, bien que formant un sous-groupe particulier, se rattachent sans ambiguïté à l'entité *japonica*. Ceci est un élément supplémentaire pour affirmer que les variétés "javanica" ne sont qu'une forme particulière des variétés *japonica*, comme cela a été souligné par Glaszmann et Arraudeau (1986), et non une forme distincte de *indica* et *japonica* comme soutenu par Chang et al. (1990).

**Chapitre VI.**  
**LES HYBRIDES F1 INTERSPECIFIQUES**  
**ENTRE *O. SATIVA* ET *O. GLABERRIMA***

Après avoir étudié les relations au niveau F1 à l'intérieur de l'échantillon d'*O. sativa*, il était intéressant d'étudier l'influence du géniteur *O. sativa* sur les descendances de croisements avec *O. glaberrima*, cette approche se situant alors parfaitement dans le cadre de nos objectifs d'étude sur la diversité d'*O. sativa*. L'article reproduit ci-après rapporte les observations faites au niveau morphologique et reproductif sur des hybrides F1 entre un parent *O. glaberrima* constant (CG1-3) et les variétés d'*O. sativa* déjà présentées. Même si d'autres études, citées dans cet article, ont étudié des hybrides entre les deux espèces cultivées de riz, l'approche adoptée demeure originale.

**A. ARTICLE: BOUGEROL, B. & PHAM, J.L. (1989) GENOME  
32: 810-815**

## Influence of the *Oryza sativa* genotype on the fertility and quantitative traits of F<sub>1</sub> hybrids between the two cultivated rice species *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud.

BRUNO BOUGEROL AND JEAN-LOUIS PHAM<sup>1</sup>

*Laboratoire d'amélioration des plantes, Centre ORSTOM d'Adiopodoumé, BP V51 Abidjan, Ivory Coast*

Corresponding Editor: J. Kuspira

Received January 30, 1989

Accepted April 23, 1989

BOUGEROL, B., and PHAM, J.-L. 1989. Influence of the *Oryza sativa* genotype on the fertility and quantitative traits of F<sub>1</sub> hybrids between the two cultivated rice species *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Genome*, 32: 810–815.

Crosses were carried out between the two cultivated rice species, using a constant *Oryza glaberrima* parent and 14 *O. sativa* cultivars, including 11 traditional African ones. The F<sub>1</sub> hybrids were studied for quantitative traits and their fertility. Analyses of the quantitative traits revealed the intermediate position of F<sub>1</sub>s with respect to the parental lines and the high heritability of several characters, including the secondary branching within the panicle. All F<sub>1</sub> hybrids showed complete seed sterility and only by an examination of the pollen could the different combinations be discriminated. The hybrids obtained from two *O. sativa* cultivars introgressed from the wild species *O. longistaminata* were particularly sterile.

*Key words:* rice, *Oryza sativa*, *Oryza glaberrima*, interspecific hybridization, sterility, quantitative inheritance.

BOUGEROL, B., et PHAM, J.-L. 1989. Influence of the *Oryza sativa* genotype on the fertility and quantitative traits of F<sub>1</sub> hybrids between the two cultivated rice species *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Genome*, 32 : 810–815.

Des croisements ont été réalisés entre les deux espèces de riz cultivé, en utilisant un parent *Oryza glaberrima* constant et 14 cultivars d'*O. sativa*, dont 11 traditionnels africains. Les hybrides F<sub>1</sub> ont été étudiés pour leur fertilité et des caractères quantitatifs. L'analyse de ces derniers a montré la position intermédiaire des F<sub>1</sub>s par rapport aux lignées parentales et l'héritabilité élevée de plusieurs caractères dont la densité de ramifications secondaires sur la panicule. Tous les hybrides F<sub>1</sub> ont présenté une fertilité paniculaire nulle, et seule l'observation du pollen a permis de discriminer les différentes combinaisons. Les hybrides issus de deux cultivars d'*O. sativa* introgressés par l'espèce sauvage *O. longistaminata* se sont montrés particulièrement stériles.

*Mots clés :* riz, *Oryza sativa*, *Oryza glaberrima*, hybridation interspécifique, stérilité, génétique quantitative.

### Introduction

The cultivation of *Oryza sativa* has spread widely in sub-Saharan Africa, since the introduction of this Asian species several centuries ago. Its spread in West Africa has been partly at the expense of the indigenous cultivated rice species, *O. glaberrima*, which is of lower agronomic value. The low variability of *O. glaberrima* (Second 1982; Miezán and Ghesquière 1986) means that the success of a breeding program centered on this species alone is unlikely. As noted by Bouharmont *et al.* (1985), *O. glaberrima* has more promise as a component of *O. sativa* breeding programs.

These two species belong to the same AA genomic group (Morinaga 1964). Cytological and cytogenetical studies have been conducted by several authors, with Bouharmont (1962), Bouharmont *et al.* (1985), and Chu *et al.* (1969) attempting to explain the high sterility of their interspecific hybrids, while a genetic model ("sporogametophytic interaction") to account for it was proposed by Sano *et al.* (1979) and Sano (1983, 1986). This sterility is an important barrier to the use of *O. glaberrima*, but it was demonstrated that the restoration of fertility is possible after several backcross generations (Yabuno 1977; Sano 1986).

The transmission of quantitative traits between the two species was studied by Sano *et al.* (1980). Although other observations were made on morphological traits of F<sub>1</sub> hybrids (Morishima *et al.* 1962; Seetharaman 1962), few results are

available for evaluating the effect of the choice of the *O. sativa* parent on the characteristics of F<sub>1</sub> hybrids.

This paper aims to study the influence of the *O. sativa* genotype on the characteristics (fertility and quantitative characters) of F<sub>1</sub> hybrids obtained from crosses between a constant *O. glaberrima* parent and 14 *O. sativa* cultivars, including 11 traditional African ones.

### Materials and methods

#### *Plant material*

The *O. glaberrima* cultivar CG1-3 was crossed with 11 traditional African cultivars and also with 3 Asian varieties used by Oka (1958) as test strains. Fertilities were also observed for some F<sub>1</sub> hybrids obtained from another *O. glaberrima* cultivar, WO25. Table 1 shows the parental lines. They were obtained from the ORSTOM<sup>2</sup> collection, except for 108, 521, 563, and WO25, which were provided by the National Institute of Genetics (Japan). The purity of parental lines was ensured by successive generations of controlled self-fertilization. The classification of these *O. sativa* genotypes into the *indica* and *japonica* subspecies was based on isozyme studies (Second 1982; Ghesquière and Second 1985; de Kochko 1987). These studies revealed that the genotypes of BS20 and 2LS102 are introgressed from the wild species *O. longistaminata*. The isozyme data also enabled checks to be made at an early stage on the legitimacy of the presumed F<sub>1</sub> hybrids.

#### *Cultivation and experimental design*

The seeds were dehulled, disinfected in a solution of sodium hypo-

<sup>1</sup>Author to whom all correspondence should be addressed at Station de Génétique Végétale, CNRS-INRA-UPS, Ferme de Moulon, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

<sup>2</sup>ORSTOM: Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération.

TABLE 1. Varieties used in crossing design

Species	Name	Origin	Enzymatic structure*
<i>O. sativa</i>	ES70-6	Tanzania	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>
	YS138-3	Guinea	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>
	YS252-1	Guinea	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>
	YS45-1	Guinea	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>
	521	Japan	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>
	563	Japan	<i>O. sativa</i> ssp. <i>japonica</i>
	BS117	Guinea-Bissau	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	BS125	Guinea-Bissau	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	ES44	Tanzania	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	ES79	Tanzania	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	SS404	Senegal	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	108	Taiwan	<i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	BS20	Guinea-Bissau	Introgressed <i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	2LS102	Mali	Introgressed <i>O. sativa</i> ssp. <i>indica</i>
	<i>O. glaberrima</i>	CG1-3	Casamance (Senegal)
WO25		Guinea-Bissau	

\*See text.

chlorite, rinsed in water, and then sown in Petri dishes. Some hybrid seeds did not germinate, without any particular genotype effect.

After 10 days, seedlings were planted out in 2-L pots. Plants were cultivated in a glasshouse, in constant-irrigation conditions. The first three panicles of each plant were bagged to avoid cross-pollination.

A randomized block design with an unequal number of repetitions per genotype (Table 2) was used in this study.

The varieties BS125, ES44, and ES79 were photosensitive and did not flower. Hence, these genotypes were excluded from the quantitative characters analysis.

#### Quantitative traits

The number of tillers was counted at 3, 4, 6, and 8 weeks (i.e., T3, T4, T6, and T8). The heading time (HEAD) was the number of days from sowing to heading of the first panicle. Other vegetative characters were scored at heading date: stem diameter (DIA, mean of the three oldest tillers, measured at the first internode level), length (LGF) and width (WIDF) of the flag leaf, ligule length (LIGU), and plant height (HGT). The panicle characteristics were estimated from the mean of the first three panicles: length (LGP), number of primary (BR1) and secondary branches (BR2), number of grains (NGR), and number of spikelet insertions (NSI). The following calculated variables were included in the analyses: LFG/WIDF, T8 - T4, BR1/LGP, BR2/BR1, BR1/LGP, BR2/LGP, and NSI/BR1.

#### Fertility

The estimation of pollen fertility was based on pollen stainability. Using Alexander's method (1969), three classes of pollen grains were discerned: normal, partially filled with cytoplasm (i.e., intermediate), and empty. For each plant, about 400 grains were scored.

#### Statistical analyses

For each set including CG1-3, one *O. sativa* genotype, and the related F<sub>1</sub> hybrids, a one-way analysis of variance was done for each trait. Where significant effects were revealed, means were compared by using Newman and Keuls's test. For these analyses, the classes were randomly reduced to equal effectives.

Multivariate analyses were carried out on the quantitative traits and fertility data. These included principal-component analysis and hierarchical ascending classification (euclidian distance and variance aggregation criterion). In principal-component analysis, calculations are performed using active data that determine a system of synthetic coordinates. Supplementary data can then be positioned in this system.

The broad-sense heritability was estimated as the coefficient of intraclass correlation of F<sub>1</sub> hybrids:  $h^2 = V_{gh}/(V_c + V_{gh})$ , with  $V_{gh}$  and  $V_c$ , respectively, being the estimates of the factor variance, i.e.,

TABLE 2. Number of plants per genotype

	Parent	Hybrid with:		
		CG1-3 as female	CG1-3 as male	WO25 as female
ES70-6	6	6	6	9
YS138-3	4	8	—	—
YS252-1	4	5	—	—
YS45-1	7	7	7	—
521	4	5	4	—
563	4	—	6	—
BS117	5	7	—	4
BS125	6	6	—	—
ES44	5	7	5	—
ES79	5	5	—	—
SS404	4	—	3	7
108	4	2	6	—
BS20	4	5	4	8
2LS102	4	8	—	—
CG1-3	7	—	—	—

genetic variance, and of the error variance.

All calculations were performed on a Goupil-G4 microcomputer, using the statistical software NDMS (ORSTOM).

## Results

### Quantitative traits

#### Univariate analyses

##### (i) Differences between parents

The *O. glaberrima* CG1-3 cultivar differed from most of the *O. sativa* cultivars (Table 3), not only in the taxonomic character of ligule length (short) but also in tillering (greater in number), stem diameter, size of the flag leaf, and secondary branching of the panicle (reduced). This last trait is considered by Sano *et al.* (1980) to be a diagnostic character to separate the two species.

The difference in the tillering of CG1-3 compared with the *O. sativa* cultivars (except 2LS102) largely arose in the first weeks, the tillering speed of most cultivars being approximately equal subsequently.

TABLE 3. Mean values of *O. glaberrima* and *O. sativa* parents for quantitative traits

Trait	CG1-3											
	( <i>O. glaberrima</i> )	ES70-6	YS138-3	YS252-1	YS45-1	521	563	BS117	SS404	108	BS20	2LS102
T3	3.6	1.3	<u>2.2</u>	1.0	1.4	1.0	1.5	2.0	2.0	1.0	1.0	<u>3.0</u>
T4	5.1	2.5	<u>3.8</u>	3.3	2.6	1.8	<u>3.5</u>	3.8	<u>4.0</u>	2.0	3.5	7.5
T6	8.4	7.5	<u>8.5</u>	4.2	<u>7.8</u>	6.0	<u>7.8</u>	7.4	<u>9.0</u>	<u>7.0</u>	<u>10.5</u>	15.5
T8	10.5	7.5	9.0	4.2	7.8	6.8	<u>10.0</u>	7.8	<u>10.3</u>	<u>8.0</u>	<u>10.7</u>	15.7
HEAD (days)	56.3	68.8	72.8	85.5	82.7	51.5	<u>55.0</u>	<u>61.8</u>	94.7	81.5	64.5	<u>61.0</u>
LGF (mm)	339	443	<u>355</u>	<u>360</u>	<u>418</u>	<u>345</u>	<u>402</u>	<u>313</u>	601	224	470	<u>397</u>
WIDF (mm)	18.6	19.3	15.2	<u>16.8</u>	18.1	12.7	12.7	12.6	11.3	12.5	14.2	9.5
LGF/WIDF	18.1	22.6	23.1	<u>21.4</u>	<u>22.0</u>	27.2	31.8	24.8	53.7	<u>17.8</u>	33.0	41.6
HGT (cm)	82.8	101.5	105.6	76.0	<u>77.9</u>	55.2	59.2	100.0	129.8	110.5	76.3	<u>96.4</u>
LIGU (mm)	3.3	16.8	18.5	11.7	14.6	11.5	16.5	17.6	18.7	13.2	14.8	13.2
DIA (mm)	7.8	10.1	10.0	12.4	13.4	5.7	6.6	9.3	12.5	13.5	8.8	11.1
LGP (mm)	25.0	25.8	18.6	18.5	21.3	18.9	18.0	23.0	<u>25.2</u>	21.9	<u>26.8</u>	22.4
BR1	10.0	9.1	8.1	7.7	<u>10.0</u>	5.3	<u>9.1</u>	<u>10.6</u>	<u>10.4</u>	<u>10.1</u>	<u>10.2</u>	<u>7.8</u>
BR2	3.9	21.5	8.1	<u>6.0</u>	8.1	11.0	7.3	17.2	18.1	12.6	32.1	<u>4.5</u>
BR2/BR1	0.4	2.4	1.0	0.8	0.9	2.1	0.8	1.6	1.8	1.2	3.1	<u>0.5</u>
NSI	83.8	121.3	<u>78.3</u>	<u>66.5</u>	<u>84.5</u>	63.9	72.6	109.1	108.8	<u>86.7</u>	143.4	59.9

NOTE: Values of *O. sativa* parents that do not differ at  $p < 5\%$  from those of CG1-3 are indicated by underscoring.

### (ii) Comparisons between hybrids and parents

The relationships between the  $F_1$ s and each of the parents are given in Table 4.

Most of the hybrids were plants of normal vigour. They showed ligule lengths intermediate between those of the parents and a very split panicle with strongly awned spikelets.

In most cases, the  $F_1$  hybrids manifested characters that were intermediate between those of their parents. However, some rare cases of transgression were observed. Heterosis ( $F_1 >$  parents) was the most frequently seen for the character height (hybrids with ES70-6, BS117, YS45-1, YS138-3, YS252-1). In rare cases,  $F_1$ s were smaller sized than their parents; thus hybrids with BS20 showed depressed tillering. This hybrid was the only one showing a reduced vigour.

Only a few examples of differences between reciprocal hybrids were observed: these included flag-leaf length for hybrids involving 521, number and density of secondary branches for those with YS45-1 and BS20.

### Multivariate analyses

A principal-component analysis was carried out on  $F_1$  hybrids, parents being treated as supplementary data.

As shown in Table 5, the first four axes described 75.5% of the total variability. Axis 1 represents panicle characteristics (number of spikelets, secondary branching). The number of primary branches was not represented on this axis, but on the third. The heading date, height, and particularly the tillering contribute to axis 2. Axis 4 is correlated to the flag-leaf length.

Figure 1 shows the mean point of each genotype on the plane defined by axes 1 and 2. All  $F_1$  coordinates fall within the range occupied by the parental ones. This confirms the lack of transgression noted in the univariate analyses.

All parental and hybrid genotypes (excluding those involving BS125, ES44, and ES79) were then classified by hierarchical ascendant classification, using their coordinates on the axes 1-4 of the principal-component analysis as variables. For 9 of the 11 cases,  $F_1$ s were classified in the same group as their *O. sativa* genitor (Fig. 2). This indicates that a high proportion of *O. sativa* characteristics is passed to CG1-3.

This can be seen more clearly in Table 6, which gives the results of the quantitative analysis of characters. The broad-

sense heritability is important for synthetic variables from axes 1, 2, and 4. The parent-offspring regression is significant for the two first axes, indicating there is an additive transmission of characters such as tillering or number of spikelets per panicle.

### Fertility

Classification of the hybrids on the basis of their fertilities was only possible through an examination of pollen fertility since all  $F_1$  hybrids showed no seed fertility. Table 7 presents the results of pollen fertility of both parents and  $F_1$ s.

The level of normal pollen is in all cases very low, and this explains why no seed fertility is observed. No difference is observed between reciprocal crosses, except those between CG1-3 and ES44.

A principal-component analysis of  $F_1$ s with CG1-3 was performed using the three descriptive variables of the pollen. Axis 1 separates those hybrids bearing empty pollen from those with intermediately filled pollen, while axis 2 is correlated with level of normal pollen. This illustrates a quasilinear relationship ( $y = 1 - x$ ) between the proportions of empty and intermediate pollen and an absence of correlation between the proportions of normal and intermediate pollen.

Figure 3 shows the three main groups obtained by the hierarchical ascendant classification using factorial coordinates. The hybrid CG1-3/ES44 is separated by its higher level of normal pollen (3%).  $F_1$  hybrids with BS20 and 2LS102 are characterized by a high rate of empty pollen (>80%). It is of interest that similar data were obtained for the hybrid WO25/BS20. Other  $F_1$ s appear to be relatively homogenous.

### Discussion

The level of pollen fertility of  $F_1$ s between CG1-3 and all *O. sativa* parents is comparable with the observations of Morishima *et al.* (1962), Chu *et al.* (1969), and Yabuno (1977) on other  $F_1$  hybrids between *O. glaberrima* and *O. sativa*. Like the last author, we found no seed fertility. We did not find any combination that showed the exceptional high level (64%) noted by Bouharmont *et al.* (1985).

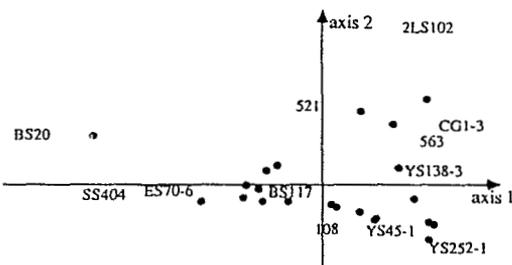
Morishima *et al.* (1962) reported that the highest  $F_1$  fer-

TABLE 4. Distribution of mean values of F<sub>1</sub> hybrids with respect to parental values

Trait	No. of F <sub>1</sub> hybrids						
	<G and <S	<G	<S	=G and =S	>G	>S	>G and >S
T3	2	9					
T4		4	1	6			
T6		2	2	8			
T8	1	5	1	4			
HEAD	1	1	6	1	5		1
LGF	1		1	8			2
WIDF		6		3		8	
LGF/WIDF	1		7	2	1		2
HGT		1	1	2		1	5
LIGU			8		11		
DIA			5	1	8		2
LGP		2		2		6	2
BR1	1	1		6		4	
BR2			5	3	6		1
BR2/BR1			5	3	4		2
NSI		2	2	6	1		1

TABLE 5. Description of the first four axes of the principal-component analysis of quantitative traits: percentage of variation explained, characters involved (coordinate and correlation)

Character	Axis 1 (30.2%)		Axis 2 (23.2%)		Axis 3 (13.1%)		Axis 4 (9.0%)	
	Coordinate	Correlation	Coordinate	Correlation	Coordinate	Correlation	Coordinate	Correlation
T6			0.40	0.84				
T8			0.40	0.85				
HEAD			-0.31	-0.65				
LGF							-0.63	-0.82
HGT			-0.32	-0.68				
LGF/WIDF							-0.48	-0.62
LGP	-0.30	-0.71						
BR1					-0.41	-0.65		
BR2	-0.38	-0.92						
NSI	-0.38	-0.90						
BR2/LGP	-0.35	-0.84						
BR2/BR1	-0.37	-0.88						
NSI/BR1	-0.37	-0.88						

FIG. 1. Representation of the mean points of parental genotypes (indicated by their name) and of F<sub>1</sub> hybrids (points) on the plane defined by the first two axes of the principal-component analysis of quantitative traits.

ilities between *O. glaberrima* and *O. sativa* were observed between *O. glaberrima* and some *O. sativa* ssp. *indica* varieties. In our study also, the most fertile combination involves an *O. sativa* ssp. *indica* variety, i.e., ES44.

As far as we know, there is no explanation of why some *O. sativa* ssp. *indica* varieties have a greater compatibility than other *O. sativa* varieties with *O. glaberrima*. One can presume that part of the answer lies at the cytoplasmic level. Indeed, Yabuno (1977) and Sano (1986) demonstrated the existence of nucleocytoplasmic interactions in hybrids between *O. glaberrima* and *O. sativa*. We observed a difference between CG1-3/ES44 and its reciprocal cross. Bouharmont *et al.* (1985) reported such differences in crosses between *O. sativa* and *O. breviligulata*, the wild ancestor of *O. glaberrima*.

On the basis of the analysis of chloroplastic genome polymorphism, Dally (1988) confirmed the distinction of *O. sativa* ssp. *indica* and *O. sativa* ssp. *japonica* and showed that there was a great similarity between *O. sativa* ssp. *indica* plastotypes and those of the wild species *O. rufipogon*. These findings are in accord with observations of Morishima *et al.* (1962), who reported that the less-sterile interspecific hybrids with *O. glaberrima* involved, in addition to the already men-

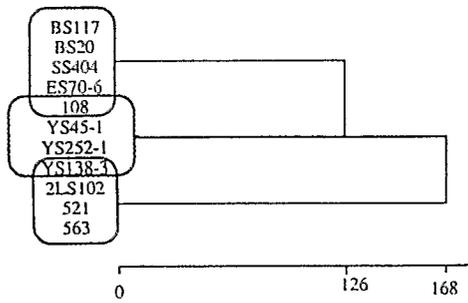


FIG. 2. Classification of *O. sativa* parents and  $F_1$  hybrids using quantitative traits: dendrogram obtained from hierarchical ascendant classification. Overlapping parts show the two varieties classified in different groups from their related  $F_1$ s.

TABLE 6. Analysis of synthetic variables obtained from the principal-component analysis of quantitative traits (axes 1-4)

Axis	(1)			(2)	
	$V_{gh}$	$V_e$	$h^2$	$r$	test
1	3.08	1.50	0.67	0.74	**
2	2.54	1.49	0.63	0.68	*
3	1.36	1.08	0.56	0.36	ns
4	1.06	0.58	0.65	-0.15	ns

NOTE: (1) Estimates of the genetic variance  $V_{gh}$ , of the error variance  $V_e$ , and of broad-sense heritability,  $h^2$ . (2) Parent-offspring regression; Pearson's correlation coefficient  $r$  and level of significance. \*, Significant at  $p < 0.05$ ; \*\*, significant at  $p < 0.01$ .

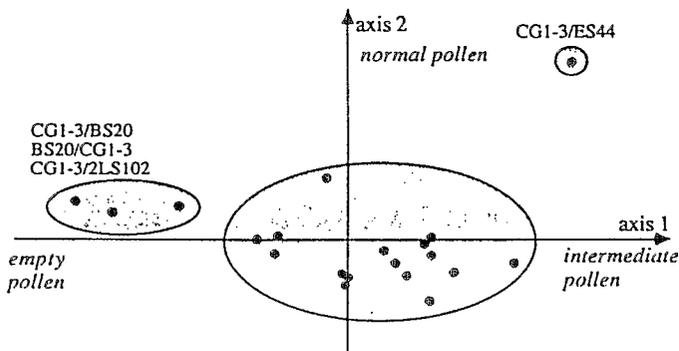


FIG. 3. Representation of  $F_1$  hybrids on the plane defined by the first two axes of the principal-component analysis of pollen data. The interpretation of axes is indicated in italics. The groups obtained from hierarchical ascendant classification are shaded.

tioned *O. sativa* ssp. *indica* varieties and to *O. breviligulata*, some accessions of *O. rufipogon* (called *O. perennis* in the original paper).

Discrimination among  $F_1$  combinations is possible not only through the proportion of normal pollen but also by that of intermediate pollen. If one considers that intermediate pollen reflects a more developed state than does empty pollen, BS20 and 2LS102 are the least compatible with CG1-3 of the 14 tested *O. sativa* varieties. The observation of reduced tillering of hybrids with BS20 supports the unfavourable combination of BS20 with CG1-3. Both BS20 and 2LS102 show isozymic alleles typical of the wild species *O. longistaminata*, so the

TABLE 7. Pollen fertility of parents and  $F_1$  hybrids

Genotype	Pollen (%)		
	Normal	Intermediate	Empty
CG1-3	90	8	2
WO25	92	5	3
ES70-6	95	4	3
YS138-3	98	2	0
YS252-1	97	1	3
YS45-1	93	5	2
521	87	10	3
563	98	1	1
BS117	96	4	1
SS404	90	8	3
108	93	3	4
BS20	91	5	4
2LS102	73	25	1
CG1-3/ES70-6	0.1	27.2	72.7
ES70-6/CG1-3	0.2	25.0	74.8
CG1-3/YS138-3	0.3	39.4	60.3
CG1-3/YS252-1	0.4	37.9	61.7
CG1-3/YS45-1	0.8	39.3	59.9
YS45-1/CG1-3	0.5	43.2	56.3
563/CG1-3	0.8	47.8	51.5
CG1-3/521	0.1	34.1	65.9
521/CG1-3	0.7	39.2	60.1
CG1-3/BS117	1.1	27.2	71.7
CG1-3/BS125	0.3	26.6	73.2
CG1-3/ES44	3.2	41.1	55.7
ES44/CG1-3	0.6	40.3	59.1
CG1-3/ES79	0.1	42.9	57.0
SS404/CG1-3	0.5	36.2	63.3
CG1-3/108	0.0	35.0	65.0
108/CG1-3	0.1	34.8	65.1
CG1-3/BS20	0.0	7.7	92.3
BS20/CG1-3	0.0	11.5	88.5
CG1-3/2LS102	0.3	16.5	83.3
WO25/ES70-6	0.5	39.2	60.3
WO25/SS404	1.0	43.1	55.9
WO25/BS117	1.3	24.8	74.0
WO25/BS20	0.2	14.6	85.2

presence of a genome fragment of this species is a possible explanation of our observations.

The analysis of quantitative characters shows that in this study, interspecific hybridizations do not induce abnormal or unstable plants. Overall visual impressions attest to the likeness of all hybrids to the two cultivated species; however, it is evident that the choice of the *O. sativa* parent has a direct influence on the characteristics of the  $F_1$  hybrids. This conclusion, if it is found to apply to a larger sample of *O. glaberrima* varieties, would suggest that plant breeders, especially those in Africa, should use *O. glaberrima* in their programs.

#### Acknowledgements

This work was supported by a part of a grant from the Commission of the European Communities (TSD A 103 F). We thank Bessi Toba Gérard and Djiragbou Mobio for their help with plant cultivation and data scoring, Boka Clément and Guela Bledy Félix for their assistance with electrophoresis, Dr. M. Noirot for his advice on the statistical analyses, Dr. A. Charrier for his comments on the manuscript, and Dr. L. Fishpool for his help in correcting the English.

- ALEXANDER, M. P. 1969. Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technol.* **44**: 117-122.
- BOUHARMONT, J. 1962. Recherches cytogénétiques sur quelques hybrides interspécifiques d'*Oryza*. *Cellule*, **63**: 53-132.
- BOUHARMONT, J., OLIVIER, M., and DUMONT DE CHASSART, M. 1985. Cytological observations in some hybrids between the rice species *Oryza sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Euphytica*, **34**: 75-81.
- CHU, Y. E., MORISHIMA, H., and OKA, H. I. 1969. Reproductive barriers distributed in cultivated rice species and their wild relatives. *Jpn. J. Genet.* **44**: 207-223.
- DALLY, A. M. 1988. Analyse cladistique de mutations de l'ADN chloroplastique et phylogénie des riz (section *Eu-Oryza* du genre *Oryza*). Études et Thèses, ORSTOM, Paris.
- DE KOCHKO, A. 1987. Isozymic variability of traditional rice (*Oryza sativa* L.) in Africa. *Theor. Appl. Genet.* **73**: 675-682.
- GHESEQUIÈRE, A., and SECOND, G. 1985. Polymorphisme enzymatique et évolution d'*Oryza sativa* L. en Afrique. In *Electrophorèse et taxonomie*. *Mém. Soc. Zool. Fr.* **42**: 263-272.
- MIEZAN, K., and GHESEQUIÈRE, A. 1986. Genetic structure of African rice cultivars. In *Rice genetics*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. pp. 91-107.
- MORINAGA, T. 1964. Cytogenetical investigations on *Oryza* species. In *Rice genetics and cytogenetics*. Proceedings of the Symposium on Rice Genetics and Cytogenetics, 4-8 February 1963, Los Banos, Philippines, Elsevier, Amsterdam. pp. 91-103.
- MORISHIMA, H., HINATA, K., and OKA, H. I. 1962. Comparison between two cultivated rice species, *Oryza sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Jpn. J. Breed.* **12**: 153-165.
- OKA, H. I. 1958. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Indian J. Genet. Plant Breed.* **18**: 79-89.
- SANO, Y. 1983. A new gene controlling sterility in F<sub>1</sub> hybrids of two cultivated rice species. Its association with photoperiod sensitivity. *J. Hered.* **74**: 435-439.
- 1986. Sterility barriers between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. In *Rice genetics*. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. pp. 91-107.
- SANO, Y., CHU, Y. E., and OKA, H. I. 1979. Genetic studies of speciation in cultivated rice. 1. Genic analysis for the F<sub>1</sub> sterility between *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Jpn. J. Genet.* **54**: 121-132.
- 1980. Genetic studies of speciation in cultivated rice. 2. Character variations in backcross derivatives between *O. sativa* and *O. glaberrima*: M-V linkage and key characters. *Jpn. J. Genet.* **55**: 19-39.
- SECOND, G. 1982. Origin of the genetic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp.): study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. *Jpn. J. Genet.* **57**: 25-57.
- SEETHARAMAN, R. 1962. Studies on hybridization between Asian and African species of cultivated rices and their significance. *Sci. Cult.* **28**: 286-289.
- YABUNO, T. 1977. Genetic studies on the interspecific cytoplasm substitution lines of japonica varieties of *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Euphytica*, **26**: 451-463.



## **Chapitre VII.**

# **SEGREGATIONS DE MARQUEURS GENETIQUES DANS LES CROISEMENTS INTRA-*O. SATIVA***

L'étude du niveau de stérilité des hybrides F1 a permis d'appréhender la manifestation la plus visible des barrières reproductives chez *O. sativa*. Dans une optique d'amélioration variétale (et si on excepte la perspective de création de variétés hybrides) cette stérilité, tant qu'elle reste dans des limites permettant l'obtention de graines F2 par simple autofécondation, n'est en elle-même pas très gênante. L'expérience accumulée par les sélectionneurs tend à prouver que l'on observe presque toujours une restauration de la fertilité au cours des générations.

On peut cependant s'interroger sur les conséquences éventuelles de la stérilité sur la variabilité observée dans les descendance. En effet, l'existence d'une stérilité partielle des hybrides F1 signifie qu'il y a élimination sur ces hybrides d'une fraction de la population de gamètes avant la fécondation ou (et) de zygotes après celle-ci. L'élimination sélective de certains génotypes impliquera des ségrégations biaisées pour la génération suivante.

L'objectif de l'étude présentée dans cette partie est de poursuivre l'analyse de la diversité d'*O. sativa* à travers l'étude de descendance de croisements: ces descendance présentent-elles des ségrégations anormales? Retrouve-t-on dans les différences entre ségrégations la classification *indica-japonica*? La perte d'information est-elle importante?

L'électrophorèse d'enzymes interviendra ici comme méthode de marquage d'u génome puisque les ségrégations seront suivies sur les locus enzymatiques. Les descendance F2 étudiées sont pour la plupart issues d'autofécondations des hybrides F1 déjà présentés. Des descendance de rétrocroisements seront observées.

Les résultats sur la cartographie des locus enzymatiques issus pour partie de l'analyse de ces ségrégations ne sont pas repris dans ce mémoire, mais l'article qui en rend compte (Pham et al. 1990) est reproduit en Annexe II. Les résultats qui se rapportent aux distorsions de ségrégations observées dans des croisements entre génotypes africains sont repris et développés.

## A. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les méthodes biochimiques se rapportant aux isozymes et à la réaction au phénol, l'analyse statistique des ségrégations, ont été décrites dans la partie générale "Matériels et Méthodes". Nous ne traiterons ici que du type de descendance étudiées.

Entre 30 et 400 individus ont été étudiés par descendance. Ces différences d'effectifs s'expliquent par le fait que les études sur ces descendance ne comportaient pas toutes les mêmes objectifs.

Les croisements entre variétés d'une même sous-espèce sont moins représentés que les croisements intersubspécifiques, ou que ceux impliquant les variétés introgressées. Ceci ne résulte pas seulement d'un choix – ces croisements étaient *a priori* moins intéressants que les autres –, mais aussi et surtout du fait que le nombre de marqueurs en ségrégation, notamment dans les secteurs chromosomiques "sensibles", était plus réduit, voire nul.

## B. RESULTATS

### 1. Ségrégations F2 monolocus

Le Tableau 13 présente les résultats obtenus sur la conformité des ségrégations observées, ceci par descendance et par secteur chromosomique. Toutes les ségrégations présentant un écart significatif par rapport aux proportions mendéliennes sont rassemblées dans le Tableau 14.

#### a) Croisements intra-*japonica*

Deux descendance ont été étudiées. Deux chromosomes sont marqués. Toutes les ségrégations sont normales.

### b) Croisements intra-*indica*

Quatre descendance F2 ont été étudiées. Cinq chromosomes sont marqués. Un seul cas de distorsion (*Pgi-1*) est observé (F2 108/SS404, excès de l'allèle SS404).

### c) Croisements *indica-japonica*

17 descendance F2 sont étudiées. 9 d'entre elles présentent au moins 1 locus en distorsion.

Sur les 9 descendance ne présentant aucune ségrégation anormale, 8 sont issues de croisement impliquant YS45-1 ou YS252-1 (variétés qui montraient une tendance à la compatibilité large dans l'étude des stérilités F1).

Sur les 7 chromosomes marqués, 6 sont porteurs de locus sujets à distorsion.

Le chromosome le plus touché par ces écarts aux proportions mendéliennes est le chromosome 6, dans le secteur *Est-2/Pgi-2*, avec 7 descendance sur 16. Cette proportion passe à 7 sur 9 si on ne prend pas en compte les descendance impliquant les parents YS45-1 et YS252-1. Le chromosome 12 (locus *Sdh-1* et *Acp-1*) est concerné dans 5 cas sur 6.

Pour les autres chromosomes, les distorsions semblent relever de cas particuliers. En particulier, le locus *Ph* de la réaction au phénol ségrège normalement dans tous les cas, sauf celui de la descendance ES70-6/SS404.

Les distorsions se manifestent dans leur majorité par un écart des fréquences alléliques à la proportion 1:1 plutôt que par une distribution F2 non conforme aux proportions  $p^2:2pq:q^2$ . Cette observation permet de considérer *a posteriori* avec confiance les cas où les fréquences alléliques ont dû être estimées en supposant réalisée l'hypothèse d'une distribution  $p^2:2pq:q^2$  de la F2.

Toutes les distorsions observées n'ont pas la même ampleur (Tableau 14). Les descendance BS125/ES70-6, ES70-6/ES79, YS138-3/ES79 présentent des distorsions extrêmes au locus *Est-2* (chromosome 6) puisqu'on y observe 1 seul individu homozygote récessif sur les 70 théoriquement attendus au total. La fréquence de l'allèle *Est-2<sup>0</sup>* y est donc estimée quasiment nulle. Dans la F2 ES70-6/SS404, le rapport des fréquences alléliques est voisin de 1:3 au lieu du rapport 1:1 attendu. Des distorsions de cette ampleur sont également observées au locus *Cat-1* (chromosome 6) dans la descendance BS125/ES70-6 et sur le

**Tableau 13.**

Conformité des ségrégations de marqueurs observées dans les descendance F2 et proportion de chromosome touchés par les distorsions.

0: conformité de la ségrégation aux proportions mendéliennes

+: distorsion de ségrégation (significative à 5 % au moins)

Croisements	Chromosomes et locus											Nb de chromosome sujets à distorsion/ Nb de chr. marqué.
	1 <i>Est-5</i> <i>Got-1</i>	2 <i>Amp-1</i>	2 <i>Got-3</i>	3 <i>Pgi-1</i>	4 <i>Ph</i>	6 <i>Pgi-2</i> <i>Est-2</i>	6 <i>Cat-1</i>	7 <i>Est-9</i>	7 <i>Est-1</i>	11 <i>Adh-1</i> <i>Pgd-1</i>	12 <i>Acp-1</i> <i>Sdh-1</i>	
<i>intra-japonica</i>												
ES70-6 / YS45-1						0	0			0		0/2
YS252-1 / YS45-1							0			0		0/2
<i>intra-indica</i>												
BS125 / SS404				0		0			0	0	0	0/4
ES79 / BS117				0		0				0	0	0/4
SS404 / BS125				0		0			0	0	0	0/5
108 / SS404				+						0	0	1/3
<i>indica-japonica</i>												
BS117 / YS138-3	0			0	0				0			0/4
BS125 / ES70-6					0	+	+	0	0		+	2/4
BS125 / YS45-1						0			0		0	0/3
ES70-6 / ES79	+					+	+	+	+	0		4/5
ES70-6 / SS404					+	+	0	0	0	0	+	3/6
ES79 / YS45-1	0					0	0					0/2
SS404 / ES70-6						+			0		+	2/3
SS404 / YS252-1						+					+	2/2
SS404 / YS45-1						0			0			0/2
YS138-3 / ES79	0					+	0	0	0	0		1/5
YS252-1 / ES79	0					0	0		0			0/2
YS252-1 / SS404				0		0			0			0/3
YS45-1 / ES44				+		0			0			1/3
YS45-1 / ES79	0					0	0		0			0/3
YS45-1 / SS404				+		0			0			1/3
108 / ES70-6				0	0	+			0			1/4
108 / YS45-1				0	0	0						0/3
<i>Avec des variétés introgressées</i>												
BS117 / BS20						0					0	0/2
BS20 / SS404	0				0	+		0		0	+	2/6
BS20 / YS309	0	0	+		+	+				+	0	4/7
BS20 / YS45-1	+				0	0					0	1/4
ES70-6 / BS20	0					0	0		0	0	0	0/5
ES70-6 / YS309		0	0		0	+	0		+	+	0	3/7
SS404 / BS20						0					0	0/2
YS138-3 / BS20	0					+			+	0	0	2/5
YS138-3 / YS309		0				0						0/2
YS309 / BS125						+					+	2/2
YS309 / SS404						0					+	0/2
YS45-1 / YS309		0	0						0			0/3
108 / BS20	0			0	0	0				+	0	1/5
108 / YS309		0	+			0			+		+	3/5

**Tableau 14.**

Ensemble des descendance F2 où sont mises en évidence des distorsions de ségrégation.

Chromosome	Croisement		Nombre de plantes F2	Locus	Frequences alléliques		Test chi-2	
	P1	/ P2			P1	P2	Homogénéité des fréquences alléliques	Distribution F2 (p2:2pq:q2)
1	ES70-6	/ ES79	120	<i>Est-5</i>	.42	.58		
1	BS20	/ YS45-1	258	<i>Got-1</i>	.56	.44	6.52 *	0.93 ns
2	BS20	/ YS309	79	<i>Got-3</i>	.58	.42	5.94 *	0.16 ns
2	108	/ YS309	48	<i>Got-3</i>	.40	.60	4.17 ns	0.10 ns
3	YS45-1	/ ES44	52	<i>Pgi-1</i>	.38	.62	2.77 ns	6.83 **
3	108	/ SS404	30	<i>Pgi-1</i>	.37	.63	4.27 *	.00 ns
3	108	/ YS138-3	30	<i>Pgi-1</i>	.50	.50	.00 ns	6.53 *
3	108	/ YS309	48	<i>Pgi-1</i>	.47	.53	0.38 ns	4.01 *
4	BS20	/ YS309	79	<i>Ph</i>	.61	.39		
4	ES70-6	/ SS404	281	<i>Ph</i>	.44	.56		
6	BS125	/ ES70-6	48	<i>Cat-1</i>	.75	.25	24.00 ***	0.59 ns
6	ES70-6	/ ES79	115	<i>Cat-1</i>	.40	.60	8.42 **	0.10 ns
6	BS125	/ ES70-6	65	<i>Est-2</i>	1.00	.00		
6	BS20	/ SS404	100	<i>Est-2</i>	.40	.60	8.00 **	2.78 ns
6	ES70-6	/ ES79	120	<i>Est-2</i>	.00	1.00		
6	ES70-6	/ SS404	398	<i>Est-2</i>	.24	.76		
6	ES70-6	/ YS309	243	<i>Est-2</i>	.44	.56		
6	SS404	/ ES70-6	60	<i>Est-2</i>	.78	.22		
6	SS404	/ YS252-1	80	<i>Est-2</i>	.59	.41	4.90 *	0.41 ns
6	YS138-3	/ ES79	96	<i>Est-2</i>	.10	.90		
6	YS309	/ BS125	80	<i>Est-2</i>	.47	.53	0.63 ns	6.27 *
6	108	/ ES70-6	30	<i>Est-2</i>	1.00	.00		
6	BS20	/ YS309	80	<i>Pgi-2</i>	.34	.66	15.63 ***	1.48 ns
6	ES70-6	/ SS404	398	<i>Pgi-2</i>	.40	.60	32.16 ***	2.47 ns
6	SS404	/ ES70-6	97	<i>Pgi-2</i>	.58	.42	4.64 *	3.25 ns
6	YS138-3	/ BS20	100	<i>Pgi-2</i>	.52	.48	0.32 ns	5.86 *
6	108	/ ES70-6	30	<i>Pgi-2</i>	.72	.28	11.27 **	4.69 *
7	ES70-6	/ ES79	117	<i>Est-9</i>	.40	.60	9.85 **	0.92 ns
7	BS125	/ ES70-6	60	<i>Pox-3</i>	.59	.41	4.03 *	2.58 ns
7	108	/ YS309	56	<i>Pox-3</i>	.38	.63	7.00 *	0.01 ns
7	ES70-6	/ ES79	46	<i>Pox-4</i>	.33	.67	11.13 **	0.01 ns
7	ES70-6	/ YS309	243	<i>Pox-4</i>	.48	.52	1.00 ns	6.13 *
7	YS138-3	/ BS20	60	<i>Est-1</i>	.61	.39		
11	BS20	/ YS309	76	<i>Adh-1</i>	.38	.63	9.50 **	1.28 ns
11	108	/ BS20	80	<i>Adh-1</i>	.59	.41	4.90 *	0.08 ns
11	ES70-6	/ YS309	309	<i>Pgd-1</i>	.62	.38	37.39 ***	0.07 ns
11	108	/ BS20	92	<i>Pgd-1</i>	.61	.39	8.70 **	1.83 ns
12	ES70-6	/ SS404	394	<i>Acp-1</i>	.36	.64	62.54 ***	0.38 ns
12	BS125	/ ES70-6	64	<i>Sdh-1</i>	.61	.39	6.13 *	0.02 ns
12	BS20	/ SS404	100	<i>Sdh-1</i>	.39	.61	9.68 **	5.92 *
12	ES70-6	/ SS404	387	<i>Sdh-1</i>	.36	.64	64.83 ***	0.73 ns
12	SS404	/ ES70-6	99	<i>Sdh-1</i>	.65	.35	16.99 ***	0.36 ns
12	SS404	/ YS252-1	80	<i>Sdh-1</i>	.69	.31	22.50 ***	0.18 ns
12	YS309	/ SS404	59	<i>Sdh-1</i>	.19	.81	43.93 ***	3.46 ns
12	YS309	/ BS125	80	<i>Sdh-1</i>	.30	.70	25.60 ***	2.90 ns
12	YS45-1	/ SS404	52	<i>Sdh-1</i>	.48	.52	0.15 ns	4.99 *

ns: non significatif

\*: significatif à 5%

\*\*: significatif à 1%

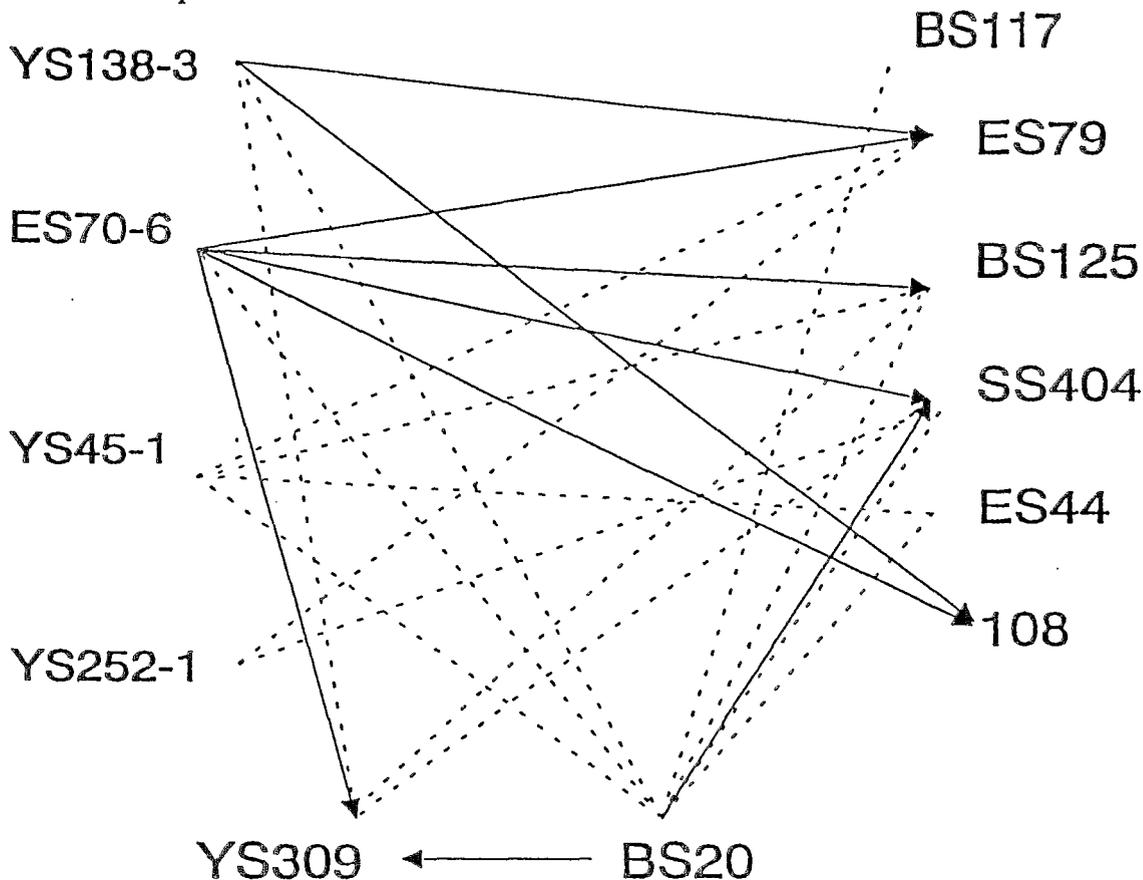
\*\*\*: significatif à 0.1%

**Figure 16.**

Conformité aux proportions mendéliennes des ségrégations observées aux loci *Pgi-2* et *Est-2* (chromosome 6) dans les F2 issues de croisements entre variétés d'*O. sativa*.

*Trait discontinu*: ségrégation normale

*Flèche noire*: distorsion de ségrégation avec excès de l'allèle issu du parent fléché.



**Tableau 15.**

Relations intervariétales établies en fonction des ségrégations observées aux locus *Pgi-2/Est-2*

	SS404	BS125, ES79	BS20	YS309
ES70-6, YS138-3	Distorsion forte	Distorsion extrême	Pas de distorsion	Distorsion faible
YS45-1, YS252-1	Pas de distorsion	Pas de distorsion	Pas de distorsion	non étudié
BS20	Distorsion faible	Pas de distorsion		Distorsion faible
YS309	Pas de distorsion	non étudié	Pas de distorsion	

chromosome 12 (locus *Sdh-1* et *Acp-1*) dans la F2 ES70-6/SS404. Les autres distorsions montrent un rapport de fréquences alléliques de l'ordre de 2:3.

Toutes les écarts de fréquences alléliques au ratio 1:1 sont en faveur de l'allèle issu du parent *indica*.

#### d) Croisements avec les variétés BS20 et YS309

Quinze descendances F2 sont observées. Huit d'entre elles présentent au moins 1 locus en distorsion (5 sur 9 avec BS20, 4 sur 7 avec YS309).

Sur les 9 chromosomes marqués, 7 portent un locus présentant au moins 1 cas de distorsion. Le chromosome 6 est le plus concerné (4 descendances sur 5).

L'amplitude des distorsions observées sur les fréquences alléliques reste limitée à un ratio 4:6.

#### e) En résumé

Sur 39 ségrégations observées, vingt, dont 8 descendances issues de croisement *indica-japonica* ségrègent de façon mendélienne aux locus observés .

Sur les 9 chromosomes marqués, seul celui supportant le locus *Got-3* ne fait l'objet d'aucune distorsion. Il faut cependant remarquer que ce locus n'intervient que dans 2 descendances différentes, toutes deux avec le même parent mâle YS309.2

## 2. Le cas du chromosome 6

Le segment du chromosome 6 marqué par les locus *Pgi-2* et *Est-2* apparaît comme un des plus concernés par les distorsions. Nous lui consacrerons une attention particulière.

La Figure 16 représente l'ensemble des relations examinées pour les locus *Est-2* et/ou *Pgi-2*.

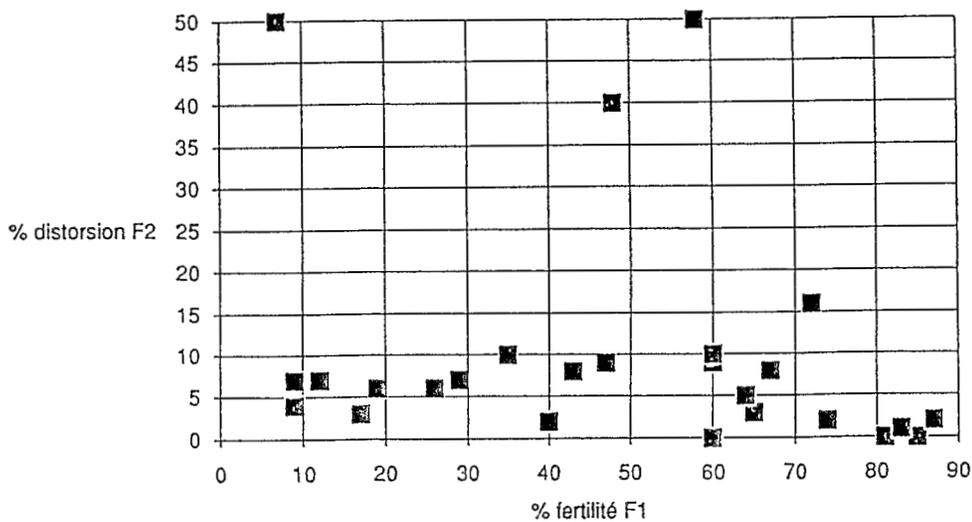
L'opposition entre les variétés *japonica* YS138-3 et ES70-6 d'une part, et les variétés *indica* ES79, BS125, SS404, ES44 et 108 apparaît d'emblée.

La variété BS20 semble plus proche des variétés *japonica* que des variétés *indica*, tandis que YS252-1 et YS45-1 occupent une position intermédiaire.

**Tableau 16 et Figure 17.**

Relation entre taux de stérilité F1 et taux de distorsion en F2 aux locus *Pgi-2/Est-2*

Descendance F2		Fertilité %	Taux de distorsion	
			<i>Pgi-2/Est-2</i>	<i>Sdh-1</i>
BS125	X ES70-6	7	50	11
BS125	X YS45-1	17	3	
ES70-6	X ES79	58	50	
ES70-6	X SS404	35	10	14
ES79	X YS45-1	9	4	
SS404	X ES70-6	43	8	
SS404	X YS252-1	60	9	19
SS404	X YS45-1	74	2	
YS138-3	X ES79	48	40	
YS252-1	X ES79	47	9	
YS252-1	X SS404	81	0	
YS45-1	X ES44	67	8	
YS45-1	X ES79	9	7	
YS45-1	X SS404	65	3	12
BS20	X BS125	85	0	
BS117	X BS20	40	2	
BS20	X SS404	60	10	11
BS20	X YS309	72	16	
BS20	X YS45-1	83	1	
ES70-6	X BS20	60	0	
ES70-6	X YS309	26	6	
SS404	X BS20	64	5	
YS138-3	X BS20	87	2	
YS138-3	X YS309	29	7	
YS309	X BS125	12	7	20
YS309	X SS404	19	6	31



Le comportement de YS309 ne s'apparente ni à celui de BS20, ni à celui de ES70-6.

L'observation plus attentive des résultats conduit à préciser l'analyse. Les taux de distorsion sont en effet extrêmement variables puisqu'ils vont, pour le locus *Est-2*, d'une situation avec élimination quasi-complète de génotypes homozygotes  $2^0 2^0$  (F2 BS125/ES70-6) à des situations de déséquilibres alléliques de faible amplitude (F2 BS20/SS404).

Sur la base de ces intensités de distorsions, il est possible d'effectuer la classification présentée dans le Tableau 15. Les relations qui sont observées offrent une bonne correspondance avec la classification obtenue à partir des fertilités F1. En particulier, on retrouve la partition des variétés enzymatiquement classées *japonica* en 2 groupes, ES70-6 et YS138-3 d'une part et YS252-1 et YS45-1 d'autre part.

### 3. Relation entre la fertilité F1 et les distorsions

Le Tableau 16 et la Figure 17 montrent qu'il n'y a pas de liaison entre le taux de stérilité de l'hybride F1 et le taux de distorsion dans le segment chromosomique *Pgi-2/Est-2*. Cette situation peut s'expliquer par le fait que tous les systèmes impliqués dans la stérilité F1 ne sont pas situés dans ce secteur chromosomique.

### 4. Descendances de rétrocroisements

Les distorsions de ségrégations concernent-elles à la fois les gamètes mâles et les gamètes femelles ? Des descendances de rétrocroisements ont été étudiées pour les croisements entre ES70-6 et SS404. Les résultats des ségrégations sont indiqués dans le Tableau 17.

Les fréquences alléliques indiquées sont celles des allèles dans la population de gamètes femelles. Les locus pour lesquels des distorsions sont observés sont ceux pour lesquels des distorsions étaient également observés en F2: *Est-2* et *Pgi-2*. L'écart aux proportions mendéliennes n'est pas significatif pour le locus *Sdh-1*, peut-être pour des raisons d'effectifs.

Les gamètes femelles apparaissent donc touchés par les mécanismes de distorsion. Les fréquences observées sont telles que, compte tenu de l'erreur sur les estimations, l'on puisse évoquer un mécanisme affectant de façon symétrique les gamètes mâles et les gamètes femelles.

**Tableau 17.**

Ségrégations dans des descendance de rétrocroisements entre ES70-6 et SS404.

*Descendance ES70-6/SS404//ES70-6*

Locus	Ségrégation		Effectif total	Test chi-2		Fréquences alléliques	
	ES70-6/ES70-6	SS404/ES70-6		1 ddl		ES70-6	SS404
<i>Cat-1</i>	26	27	53	0.02	NS	0.49	0.51
<i>Sdh-1</i>	22	33	55	2.20	NS	0.40	0.60
<i>Pgd-1</i>	26	30	56	0.29	NS	0.46	0.54
<i>Est-9</i>	29	25	54	0.30	NS	0.54	0.46
<i>Est-2</i>	11	45	56	20.64	***	0.20	0.80
<i>Pgi-2</i>	17	37	54	7.41	**	0.31	0.69

*Descendance SS404/(ES70-6/SS404)*

locus	Ségrégation		Effectif total	Test chi-2		Fréquences alléliques	
	SS404/ES70-6	SS404/SS404		1 ddl		ES70-6	SS404
<i>Sdh-1</i>	8	57	65	36.94	***	0.12	0.88

**Tableau 18.**

Ségrégations dans des descendance de rétroisements entre "testeurs de Oka".

*Descendance 521/108//108*

locus	Ségrégation		Effectif total	Test chi-2		Fréquences alléliques	
	521/108	108/108		1 ddl		521	108
<i>Sdh-1</i>	26	69	95	19.46	***	0.27	0.73

*Descendance 521/108//521*

locus	Ségrégation		Effectif total	Test binomial		Fréquences alléliques	
	521/521	108/521				521	108
<i>Sdh-1</i>	1	10	11	p=.006	**	0.09	0.91

Des résultats similaires sont observés au locus *Pgi-2* dans les croisements entre les 2 variétés testeurs 521 et 108 (Tableau 18).

### 5. Effets réciproques

L'analyse des hybrides F1 ayant montré l'existence de nombreux effets réciproques pour la fertilité, on a recherché si des effets réciproques pouvaient également être mis en évidence au niveau des ségrégations. Cependant, du fait du manque de graines engendrées par les hybrides F1 stériles, les croisements où ont été observés les effets les plus importants entre hybrides réciproques n'ont pu être étudiés.

Le Tableau 19 présente les ségrégations pour lesquelles les deux sens de croisement ont été étudiés.

Un effet réciproque significatif à 5% n'est observé pour la fréquence des génotypes que dans les croisements entre BS20 et SS404 au locus *Sdh-1* et, au seuil 6%, dans ceux entre BS125 et SS404 pour *Pgi-1*. Ce sont deux croisements pour lesquels le sens de croisement ne semblait pas influencer sur le niveau de fertilité.

### 6. Ségrégations bi-locus

Des déséquilibres de liaison ont été observés entre locus physiquement indépendants. Des résultats contradictoires, liaison ou indépendance selon les descendances sont ainsi observés (voir les ségrégations dans l'article de Pham et al. 1990 en annexe) entre les locus *Acp-1* et *Pox-2*, *Sdh-1* et *Acp-1*, *Est-2* et *Cat-1*, *Est-2* et *Sdh-1*, et enfin *Est-2* et *Acp-1*.



**Tableau 19.**

Comparaison de ségrégations entre descendances F2 issues de croisements réciproques

Croisement		Locus	Test d'homogénéité				
						X2	p
BS125 / SS404 SS404 / BS125		<i>Pox-3</i>	22	26	12	1.26	.534
			16	29	14		
		<i>Sdh-1</i>	19	25	15	.77	.682
			15	29	15		
		<i>Pgd-1</i>	12	24	18	3.35	.187
			14	34	11		
		<i>Pgi-1</i>	12	24	18	5.70	.058
			29	52	16		
		<i>Pgi-2</i>	17	31	16	.71	.703
			31	47	20		
ES70-6 / SS404 SS404 / ES70-6		<i>Est-1</i>	94	295		1.21	.545
			26	74			
		<i>Est-2</i>	23	375		.06	.808
			3	57			
		<i>Pgi-2</i>	56	206	136	1.21	.545
			13	56	28		
		<i>Sdh-1</i>	45	185	157	.026	.987
			11	48	40		
YS45-1 / ES79 ES79 / YS45-1		<i>Est-2</i>	19	37	24	1.55	.461
			23	29	18		
		<i>Est-5</i>	57	23		2.13	.145
			57	13			
		<i>Enp-1</i>	65	15		2.59	.108
			49	21			
BS20 / SS404 SS404 / BS20		<i>Est-2</i>	20	40	40	1.55	.460
			17	38	25		
		<i>Sdh-1</i>	21	36	43	8.42	.015 *
			18	44	19		
YS45-1 / SS404 SS404 / YS45-1		<i>Est-1</i>	12	44		0.30	.584
			8	22			
		<i>Est-2</i>	19	24	15	.93	.628
			7	15	8		
YS252-1 / SS404 SS404 / YS252-1		<i>Est-2</i>	26	50	26	2.78	.250
			29	36	15		
		<i>Sdh-1</i>	17	52	32	5.07	.079
			7	36	37		

\*, significatif à  $p < 0.05$

**Tableau 20.**

Quelques espèces ou genres chez lesquels ont été observées des ségrégations mono-locus non-mendéliennes.

<i>Pennisetum</i>	Sarr et al. (1988), Robert (1989)
<i>Setaria</i>	Darmency et Pernes (1987), Crouillebois et al. (1989)
<i>Beta</i>	Lange et de Bock (1989); Wagner et Wricke (1991)
<i>Triticum</i>	Scoles et Kibirge-Sebunya (1983)
<i>Zea maïs</i>	Emerson (1925); Pfahler (1967); Wendel et al. (1987); Doebley et al. (1990); Bernhart (1991)
<i>Lentil</i>	Havey et al. (1989)
<i>Lycopersicum</i>	Tanksley et al. (1982), Rick (1963, 1966)
<i>Phaseolus lunatus</i>	Bemis (1959)
<i>Hordeum</i>	Pedersen (1988); Konishi et al.(1990)
<i>Raphanus</i>	Snow et Mazer (1988)
<i>Nicotiana</i>	Cameron et Moav (1957)
<i>Daucus carota</i>	Wesphal et Wricke (1991)
<i>Pinus radiata</i>	Matheson (1980)
<i>Picea abies</i>	Geburek et von Wuehlisch (1989)

## C. DISCUSSION

### 1. Principaux résultats

Le suivi des ségrégations de locus isozymiques permet de constater la fréquence des distorsions. Celles-ci sont particulièrement importantes dans les descendance de croisements intersubspécifiques. Elles concernent à la fois les gamètes males et femelles. En cas de distorsion, l'excès de l'allèle issu du parent *indica* semble systématique. L'effet du sens de croisement apparaît anecdotique.

Les distorsions observées sur le chromosome 6 sur le segment marqué par les locus *Est-2* et *Pgi-2* permettent de retrouver la classification obtenue à partir des fertilités F1.

### 1. Importance quantitative et qualitative des distorsions

Si on ne peut aller jusqu'à affirmer que les ségrégations mendéliennes constituent l'exception et non la règle, il reste que le nombre de chromosomes mis en cause au total est très important puisque 8 des 9 chromosomes marqués présentent au moins une distorsion. L'échantillonnage des locus marqueurs étant *a priori* aléatoire, on peut supposer que l'ensemble du génome peut en fait être soumis à des distorsions.

Les distorsions les plus importantes sont observées dans les croisements *indica-japonica*. Si le taux de distorsion (écart par rapport à 50%) peut parfois sembler assez faible, il faut se souvenir que la distribution des génotypes en F2 se traduit en carré des fréquences alléliques.

Nombreux sont les espèces ou complexes d'espèces dans lesquels ont été répertoriés des exemples de ségrégations non mendéliennes pour des caractères au déterminisme monogénique bien établi. Le Tableau 20 propose quelques exemples. On peut ajouter à ces références issues du domaine végétal le cas très étudié du gène *Segregation Distorter* chez la drosophile (Charlesworth et Hartl 1978, Crow 1979 parmi d'autres auteurs).

Lloyd (1984) rappelle cependant que pour aussi remarquables et intéressants qu'ils soient, ces phénomènes ne doivent pas occulter le fait que les lois de Mendel sont le plus souvent respectées. Et pourtant, ces phénomènes

sont susceptibles d'avoir une grande importance, tant au plan évolutif (Ottaviano et Mulcahy 1986) qu'au plan pratique (Linskens 1987).

## 2. Excès systématique des allèles *indica*.

Il est remarquable que les excès alléliques soient systématiquement en faveur du parent *indica*. Cet avantage des allèles *indica* semble être la règle, y compris dans des croisements entre variétés asiatiques (Pham et al. 1990). Nous ne lui connaissons pas d'exception. On relèvera cependant que Guiderdoni (1991) ne relève pas de sélection gamétique aussi marquée en haplodiploïdisation.

De nombreux auteurs ont relevé l'importance des facteurs environnementaux pour les distorsions de ségrégations, par exemple chez le tomate (Zamir et al. 1981), le maïs (Herrero 1980) ou le mil (Sarr et al. 1988). Nous n'avons pas conduit d'expérience en ce sens. Nous relèverons cependant que les semences F2 ont été obtenues sur des hybrides F1 cultivés à des périodes de l'année très différentes en terme de luminosité ou de température, avec des modes de culture pluvial et pseudo-irrigué (serre) et que ceci n'a jamais conduit à mettre en défaut l'observation de l'excès systématique des allèles *indica* en cas de distorsion.

Cet avantage systématique de l'allèle *indica* peut être rapproché des observations de Dally (1988) qui constate, en étudiant le polymorphisme de l'ADN chloroplastique d'un échantillon d'une collection mondiale d'*O. sativa*, des substitutions nucléo-cytoplasmiques dans le sens noyau *indica* sur cytoplasme *japonica* et jamais la situation inverse.

Cette situation de "dominance absolue" des allèles *indica* semble placer *O. sativa* en position originale. Chez le mil, Sarr (1987) et Robert (1989) mettent en évidence des situations plus complexes de compétitions polliniques où, selon les situations génotypiques en jeu, le pollen de plantes sauvages se trouve avantagé ou désavantagé par rapport à celui de génotypes cultivés. Robert (1989) en conclut que les distorsions de ségrégation ne peuvent être considérées chez le mil comme un élément de divergence génétique entre plantes sauvages et cultivées.

Peut-on avancer une explication à cette domination des allèles *indica* ? Il apparaît peu vraisemblable que des mécanismes génétiques simples, dont les déterminants génétiques seraient issus d'évènements mutationnels au cours d'une différenciation ou d'une évolution distincte de deux sous-espèces, agissent tous dans le même sens.

L'influence du cytoplasme serait une hypothèse séduisante dans la mesure où on peut imaginer qu'une différence originelle influant sur la direction de la distorsion se soit perpétuée. Mais cette hypothèse est infirmée par nos résultats qui montrent que le sens de croisement n'intervient que rarement sur la distorsion.

On peut se demander alors si des facteurs "mécaniques", mis en cause lors de la méiose, ne seraient pas plus à même d'expliquer ces observations. Comme nous l'avons écrit plus haut, des résultats de Zhao et al. (1989), Cordesse et al. (1990) et de Kochko et al. (1989) convergent pour montrer une tendance des variétés *indica* à posséder un plus grand nombre de séquences répétées que les variétés *japonica*. Ces différences quantitatives portant sur les séquences répétées pourraient avoir une influence sur l'appariement des chromosomes à la méiose (Flavell 1982), sans toutefois être détectables par observation cytologique.

### 3. Maintien des allèles *japonica*

Si un allèle possède une tendance expansionniste, on peut se demander pourquoi cette tendance n'est pas poussée à son terme par l'envahissement du dit allèle. Les raisons du maintien du polymorphisme ont été envisagées par Maynard-Smith (1978), puis notamment par Lloyd (1984):

- La possession d'un allèle peut avoir un certain *coût* pour les individus qui le portent. Par exemple: baisse de la fécondité des individus porteurs de l'allèle majoritaire. Ce type de désavantage est d'une certaine façon susceptible de s'appliquer à *O. sativa*, puisqu'on peut penser qu'un hybride *indica-japonica* aura une fertilité moindre.
- Les porteurs de chacun des deux allèles peuvent avoir des avantages distincts. Ceci peut notamment être envisagé en Afrique où la superposition de la classification du type de riziculture pluvial/irrigué avec la classification *japonica-indica* est telle qu'on peut s'interroger sur l'existence d'associations alléliques entre locus neutres et locus sélectionnés (hitchhiking....).



## **Chapitre VIII.**

# **SEGREGATIONS DANS LES RETROCROISEMENTS ENTRE *O. SATIVA* ET *O. GLABERRIMA***

Sano et al. (1980) ont mis en évidence une tendance à la transmission non-indépendante entre caractères morphologiques et reproductifs dans des descendance de croisement entre les deux espèces cultivées. L'influence des barrières reproductives sur la variabilité des descendance issues d'hybridations entre *O. sativa* et *O. glaberrima* demeure cependant peu connue.

Après avoir étudié l'influence du parent *O. sativa* sur les caractéristiques d'hybrides F1 entre *O. sativa* et *O. glaberrima*, on se propose ici d'étudier l'influence du géniteur *O. sativa* sur la génération suivante, à savoir les descendance de rétrocroisements. A partir d'un génotype hybride F1 *O. glaberrima/O. sativa* spp *japonica* utilisé comme parent femelle constant, nous étudierons les descendance de rétrocroisements obtenues en pollinisant cet hybride F1 par 4 variétés *O. sativa* différentes. Bien que les effectifs étudiés puissent être considérés comme restreints (de 9 à 34), c'est à notre connaissance la première fois que des descendance aussi conséquentes de rétrocroisements impliquant les deux espèces cultivées sont observées. On pourra s'étonner de constater que le génotype du parent *O. glaberrima* (WO25) est différent de celui utilisé pour l'étude des hybrides F1 (CG1-3). Ce changement de génotype résulte seulement de plans de rétrocroisements plus fructueux dans le premier cas que dans le second. On verra que ce changement apporte en fait un avantage dans l'analyse génétique.

Ce chapitre est la version française, à quelques changements près, d'un article à paraître à *Heredity* (Pham & Bougerol: Abnormal segregations in crosses between the 2 cultivated rice species).

## A. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

La première phase a été celle d'obtention des quatre descendance de rétrocroisements:

- WO25/ES70-6//ES70-6
- WO25/ES70-6//YS309
- WO25/ES70-6//SS404
- WO25/ES70-6//YS45-1.

Les parents *O. glaberrima* WO25 et *O. sativa* spp. *japonica* ES70-6 ont d'abord été croisés pour obtenir des hybrides F1. Cette obtention ne pose aucune difficulté. Les plantes F1 ont une très faible fertilité pollinique (<1%) comme il est le plus souvent observé (Morishima et al. 1962, Chu et al. 1969, Yabuno 1977, Bougerol et Pham 1989) et sont vraisemblablement très femelle-stériles (Chu et al. 1969), car l'obtention de grains est très difficile lors de la pollinisation par chacun des 4 parents *O. sativa*. Le taux de réussite des rétrocroisements, sans différence sensible entre croisements, est d'environ 4%, chiffre très proche de celui obtenu par Sano (1983). Entre 12 et 46 grains par descendance ont été obtenus. Le parent femelle WO25/ES70-6 étant constant, nous noterons les descendance //ES70-6, //YS309, //SS404 et //YS45-1.

Les grains ont été décortiqués, désinfectés dans une solution d'hypochlorite de soude, rincés à l'eau distillée et semés ensuite en boîtes de Petri avec de la solution nutritive. A 10 jours, les plantules ont été repiquées dans des pots de 2 litres. Les plantes ont été cultivées en serre, dans des conditions d'irrigation constante, disposées en un dispositif randomisé incluant les plantes issues des rétrocroisement, des hybrides F1 WO25/ES70-6 et les lignées parentales. Les trois premières panicules de chaque plante ont été ensachées pour éviter toute allopollinisation.

La conformité des ségrégations mono-locus aux proportions mendéliennes attendues a été vérifiée par le test binomial pour les descendance //ES70-6, //YS45-1, //YS309 (effectifs inférieurs à 25), par le test  $\chi^2$  avec correction de continuité pour la descendance //SS404 (effectifs compris entre 25 et 200). L'indépendance des ségrégations des locus pris 2 à 2 a été testée (test  $\chi^2$ ) dans la seule descendance //SS404, pour des raisons d'effectifs.

## B. RESULTATS

### 1. Développement des plantes

Des pertes variables ont été notées au cours du cycle cultural, allant de 37 à 60% selon les descendance (Tableau 21). Le premier niveau de perte est observé lors de la germination. Toutes les descendance montrent un pourcentage de grains non germés du même ordre de grandeur (<20%). Ce pourcentage est voisin de celui observé pour l'hybride F1 WO25/ES70-6 et de celui noté par Chu et al. (1969).

Le second niveau de perte se situe au stade plantule. Des différences significatives apparaissent alors entre les descendance. Ainsi, un fort taux de mortalité des plantules est observé pour la descendance //ES70-6 (53% des grains germés), et à un moindre degré dans la descendance //YS45-1 (29%). On observe ainsi que c'est avec le pollinisateur *O. sativa* dont le fond génétique est le plus proche de l'hybride F1 que les pertes dans la descendance backcross sont les plus importantes. Aucune perte n'est observée plus de 2 semaines après le semis.

**Tableau 21.**

Développement des descendance de backcross entre *O. sativa* et *O. glaberrima*

Backcross	Nombre de grains		Nbe de plantules mortes (avant repiquage+après)	Nbe de plantes final	Perte globale
	semés	non germés			
//ES70-6	35	5 14%	16 (5+11) 53%	14	60%
//SS404	46	4 9%	8 (1+7) 19%	34	26%
//YS309	12	2 17%	1 (1+0) 10%	9	25%
//YS45-1	27	3 12%	7 (1+6) 29	17	37%

**Tableau 22.**

Ségrégations observées aux loci marqueurs dans les quatre descendance de rétrocroisement entre *O. glaberrima* et *O. sativa* et test de leur conformité aux proportions mendéliennes 1:1

Locus	Backcross											
	//SS404			//ES70-6			//YS309			//YS45-1		
	G	S	test (1)	G	S	test (2)	G	S	test (2)	G	S	test (2)
<i>Cat-1</i>	17	15	chi-2= 0.031 ns	10	4	p= 0.09 ns	7	2	p= 0.09 ns	8	7	p= 0.50 ns
<i>Est-1</i>	-	-		7	7	p= 0.61 ns	-	-		11	5	p= 0.23 ns
<i>Est-2</i>	27	5	chi-2= 13.78 ***	12	2	p= 0.01 **	-	-		-	-	
<i>Est-9</i>	17	16	chi-2= 0.00 ns	3	11	p= 0.03 *	6	3	p= 0.25 ns	8	9	p= 0.50 ns
<i>Pgi-1</i>	20	14	chi-2= 0.74 ns	6	8	p= 0.40 ns	5	4	p= 0.50 ns	7	10	p= 0.31 ns
<i>Sdh-1</i>	18	16	chi-2= 0.03 ns	7	7	p= 0.61 ns	9	0	p= 0.00 **	11	6	p= 0.23 ns
<i>C</i>	22	8	chi-2= 5.63 *	13	1	p= 0.001 ***	-	-		13	4	p= 0.03 *

(1) Test chi-2 avec correction de continuité

(2) Test binomial

G: plantes possédant l'allèle issu du parent femelle *O. glaberrima* WO25

S: plantes possédant l'allèle issu du parent mâle *O. sativa* ES70-6

ns: non significatif

\*, p<.05; \*\*, p<.01; \*\*\*, p<.001

## 2. Ségrégations de marqueurs génétiques

Le Tableau 22 présente les résultats observés pour les ségrégations monolocus. Sur les 23 ségrégations observées, 16 sont conformes aux proportions mendéliennes 1:1, tandis que 8 s'en écartent significativement au seuil 5%. Au moins une ségrégation anormale est observée dans chaque descendance.

Le locus *Est-2* et le locus *C*, qui sont liés, sont sujets à distorsion dans toutes les descendances où ils sont observés: descendances //SS404 et //ES70-6 pour le locus *Est-2*, les mêmes plus //YS45-1 pour le locus *C*. Le locus *Sdh-1* montre une ségrégation anormale dans la descendance //YS309. Toutes ces distorsions vont dans le sens d'un excès de l'allèle issu du parent *O. glaberrima* WO25.

C'est au contraire un excès de l'allèle issu du parent *O. sativa* ES70-6 qui est observé dans la descendance //ES70-6 pour le locus *Est-9*. Cette descendance présente donc 2 distorsions de sens opposés.

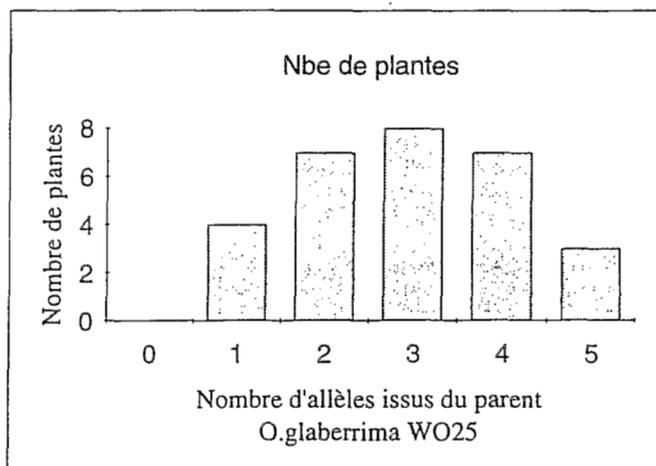
Des écarts importants aux proportions théoriques, bien que non significatifs, sont observés pour le locus *Cat-1* dans les descendances //YS309 et //ES70-6, aux locus *Est-1* et *Sdh-1* dans la descendance //YS45-1. Si on regroupe les descendances //YS309 et //ES70-6 pour le locus *Cat-1*, on observe un écart significatif en faveur de l'allèle de WO25.

Toutes les ségrégations bi-locus étudiées dans la descendance //SS404 sont en accord avec les données antérieures sur l'indépendance des locus. Il faut cependant noter que les faibles effectifs étudiés ne rendent les tests que peu puissants quant à la détection d'éventuelles ségrégations non indépendantes. Ainsi, la coségrégation des locus *Est-2* et *Cat-1*, bien qu'elle ne diffère des proportions attendues en cas d'indépendance qu'au seuil de 10%, doit attirer l'attention sur l'existence possible de pseudo-liaisons, i.e. de déséquilibre de liaisons entre des locus physiquement indépendants, dont l'existence a déjà été signalée chez *O. sativa* (Pham et al. 1990).

Une analyse multilocus révèle plus explicitement une tendance à l'association préférentielle de certains allèles. On se limite pour cela à l'ensemble des locus génétiquement indépendants, correspondant aux 5 locus enzymatiques. Une première indication est recueillie en recensant pour chaque individu le nombre

**Figure 18.**

Distribution de la descendance de rétrocroisement WO25/ES70-6//SS404 en fonction du nombre d'allèles *O. glaberrima* transmis par l'hybride F1 maternel à cinq locus isozymiques indépendants.



d'allèles issus du parent *O. glaberrima* et du parent *O. sativa* (Figure 18). Sur 29 plantes, 18 possèdent une majorité d'allèles *O. glaberrima*. Ceci ne s'écarte cependant pas significativement de la proportion 1:1.

Considérons ensuite chacune des associations alléliques. Il existe  $2^5=32$  combinaisons possibles. Or on n'en recense que 19 parmi les 29 plantes observées. On constate qu'en limitant les observations aux quatre locus *Est-2*, *Est-9*, *Pgi-1* et *Cat-1*, 7 plantes sur 29 possèdent une association d'allèles identique à celle du parent *O. glaberrima* WO25. Cette proportion diffère significativement de la proportion théorique 1/16 ( $\chi^2=4.994$ , 1 ddl,  $p=0.025$ ). En revanche elle ne diffère pas de la proportion attendue à partir de l'association aléatoire des allèles, calculée à partir des fréquences alléliques observées.

## C. DISCUSSION

### 1. Rappel des résultats

Les descendances de rétrocroisement s'obtiennent difficilement à cause de la forte stérilité femelle présumée de l'hybride *O. glaberrima*/*O. sativa* WO25/ES70-6. Des pertes variables sont observées de la germination au stade plantule. Des distorsions de ségrégations sont observées dans les descendances.

### 2. Analyse des distorsions

Les distorsions de ségrégation des locus marqueurs sont causées par une sélection s'exerçant sur les segments chromosomiques portant ces marqueurs. Cette sélection peut avoir lieu au stade haploïde pendant la phase prézygotique, soit au stade diploïde après la syngamie. Ottaviano et Mulcahy (1986) définissent ainsi les sélections gamétophytique, en y incluant les évènements de la fécondation, et sporophytique.

Examinons tout d'abord l'hypothèse d'une sélection gamétophytique chez l'hybride WO25/ES70-6. Il nous faut distinguer les cas du locus *Est-2*, qui présente la même distorsion dans les descendances où il est en disjonction, et celui des locus *Sdh-1* et *Est-9* pour lesquels les résultats varient selon les descendances.

i) Locus *Est-2*

A partir de l'étude de lignées isogéniques, Sano et al. (1979) ont proposé un modèle dit "d'interaction sporogamétophytique" (voir Figure 4a) expliquant une part de la stérilité des hybrides entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. Ils ont utilisé la variété *O. glaberrima* WO25 (reprise dans notre étude), qu'ils ont croisée avec une variété *indica*, 108. Leur modèle est le suivant: 108 et WO25 sont supposés être de génotypes respectifs  $S-I^a S-I^a$  et  $S-I S-I$ . L'hybride F1 est alors de génotype  $S-I^a S-I$ . La présence d'allèles *S* dans le tissu maternel impliquerait la stérilité des gamétophytes F1 mâles et femelles portant des allèles *Sa*. Ces auteurs ont localisé ce gène *S-I* ("gamete killer") sur le chromosome 6 grâce à sa liaison avec le locus *C*. Sano (1983) a par la suite identifié un gène *S-3*, agissant sur le même principe, mais agissant seulement sur les gamétophytes mâles ("pollen killer"). Le même auteur démontre ensuite que le gène "gamete killer" *S1* est en fait un complexe "pollen killer"/"modifier" (Sano 1990). On notera que 4 à 5 gènes d'interaction sporogamétophytique agissant sur la viabilité des gamètes femelles suffisent à expliquer le faible taux de réussite en croisement (4%), si on assimile ce dernier pourcentage au taux de fertilité femelle.

Ce modèle permet d'expliquer les distorsions observées aux locus *Est-2* et *C* dans les descendances où ces locus sont en disjonction. En effet, ce système implique l'élimination des gamètes femelles portant l'allèle  $S-I^a$  (issu du parent *O. sativa*) et donc une distorsion sur les locus marqueurs liés à ce gène. Supposons ainsi que WO25 et ES70-6 possèdent respectivement des allèles  $S-i$  et  $S-i^a$  fonctionnant sur le même modèle que  $S-I$  et  $S-I^a$ . L'excès d'allèles de type *O. glaberrima* aux locus *Est-2* et *C* dans les descendances pourrait s'expliquer par une liaison entre ces locus et le gène  $S-i$ . Bien que nous ne puissions ici le démontrer, on peut supposer que le gène  $S-i$  soit en fait le gène  $S-I$  mis en évidence par Sano et al. (1979) puisque la même variété d'*O. glaberrima* (WO25) est à l'origine des observations et que celles-ci permettent de conclure à une même localisation chromosomique (chromosome 6).

ii) Locus *Est-9* et *Sdh-1*

Dans le modèle d'interaction sporogamétophytique, l'interaction se situe entre le sporophyte et les gamètes femelles issus de ce sporophyte. Si cette interaction entraîne une distorsion sur un locus marqueur, celle-ci doit être observée dans toutes les descendances de rétrocroisement issues de l'hybride F1 considéré, sauf si on fait intervenir des mécanismes de correction particuliers.

L'observation simultanée de ségrégations mendéliennes et de ségrégations non conformes aux locus *Est-9* et *Sdh-1* montre par conséquent que le modèle d'interaction sporogamétophytique ne peut s'appliquer pour expliquer les distorsions observées.

Il faut pour cela tenir compte du génotype du parent pollinisateur du rétrocroisement, ES70-6 pour le cas de *Est-9*, YS309 pour celui de *Sdh-1*. Il est difficile, dans l'hypothèse d'une sélection gamétophytique, d'imaginer une fécondation préférentielle de certains ovules par le pollen. Il n'y a en effet qu'un seul ovule par épillet et une fécondation préférentielle supposerait alors une fécondation non indépendante des épillets. L'observation des croisements entre ES70-6 et tous les autres géniteurs *O. sativa* permet d'exclure l'hypothèse de systèmes d'incompatibilité.

Nous privilégions l'hypothèse d'une sélection sporophytique qui pourrait avoir lieu au cours du développement de la graine, lors de la germination, ou après celle-ci. Quelle est donc l'étape concernée ?

-Le taux de germination observé est satisfaisant pour des graines obtenues en fécondation artificielle, et les pertes observées à ce stade ne peuvent suffire à expliquer l'ampleur de certains écarts en ségrégation. De plus ces pertes sont homogènes entre descendances.

-Il est peu probable que la mortalité des plantules soit source de distorsion pour les descendances //SS404, //YS45-1 et //YS309 au locus *Sdh-1*. En effet, si ces trois descendances présentent grossièrement une mortalité du même ordre, elles diffèrent par leurs ségrégations au locus *Sdh-1*. De plus, le taux de mortalité dans le rétrocroisement //YS309 est sans comparaison avec le niveau de distorsion à ce locus. En revanche, la descendance //ES70-6 présente un taux de mortalité particulièrement élevé, voisin de 50% et qui pourrait expliquer la distorsion notée au locus *Est-9*. Des cas de faiblesse ou de plantes non-viables ont été recensés après hybridations intra- ou interspécifiques au sein du groupe *Sativa* (Chu et al. 1969) mais les modèles génétiques invoqués ne peuvent s'appliquer ici.

**Tableau 33.**

Description des quatre premiers axes d'une ACP sur les caractères agromorphologiques de la descendance F2 ES70-6/SS404: part de l'inertie totale, caractères impliqués (corrélation).

Caractère	F2 ES70-6/SS404			
	Axe 1 36.1%	Axe 2 24.0%	Axe 3 13.7%	Axe 4 10.8%
<i>Var. actives</i>				
T7				
EPI				
HAD	0.48			
LOD		0.83		
LAD	-0.88			
TAM				
LOP				
RA1	0.81			
RA2	0.87			
NIE	0.90			
LOG			0.84	
LAG				0.90
LLD		0.79		
ARD		0.63		
LLG			0.70	0.60
ARG			0.63	
R21	0.53			
DPA	0.62			

**Tableau 34.**

Répartition des plantes en fonction de la réaction de leurs grains au phénol dans les quatre classes constituées sur le 1er axe de l'ACP faite sur les caractères agromorphologiques (cf Tableau 33).

Les classes vont du pôle du parent *indica* SS404 à celui du parent *japonica* ES70-6.

	<i>Classe 1</i>	<i>Classe 2</i>	<i>Classe 3</i>	<i>Classe 4</i>
<b>[phénol -]</b>	7 8.1%	15 16.3%	33 31.1%	17 45.9%
<b>[phénol +]</b>	79 91.9%	77 83.7%	73 68.9%	20 54.1%

Les classes diffèrent pour la répartition [phénol+]/[phénol-]  
chi-2=28.4, 3 ddl, p<0.001

En l'absence d'explications satisfaisantes des distorsions au locus *Sdh-1*, il est nécessaire d'envisager l'avortement précoce du zygote. L'hypothèse de sélection zygotique précoce a été retenue par pour expliquer des distorsions de marqueurs enzymatiques dans un croisement entre *Lycopersicon esculentum* et *L. chilense* (Rick 1963) puis entre *Lycopersicum esculentum* et *L. pennelli* (Gadish et Zamir 1987). Ces auteurs évoquent une possible interaction défavorable embryon-albumen. A notre connaissance, aucune sélection zygotique différentielle n'a jamais été proposée chez le riz. Nous avons toutefois identifié dans une communication de Ikehashi et Araki (1986) des résultats pouvant être interprétés de cette façon (Tableau 23). Toutefois le déroulement exact de l'expérimentation décrite nous est inconnu.

Nous n'avons pas élucidé le déterminisme génétique de cette sélection zygotique différentielle. Une interaction embyon-albumen a été suggérée par Grant (1975) pour expliquer ce type de phénomène. Une voie d'étude est le modèle développé par Chu and Oka (1970) pour expliquer l'échec du développement de l'albumen chez les hybrides F1 entre *O. sativa* et *O. longistaminata*. Ce modèle est basé sur un dosage allélique défavorable dans l'albumen. Ghesquière (1988) a repris et modifié ce modèle.



## Chapitre IX.

### DISCUSSION DE LA SECONDE PARTIE

Cette seconde partie avait pour but d'appréhender l'organisation d'un échantillon de variétés africaines d'*O. sativa*, essentiellement sous l'angle des barrières reproductives, tant en croisements intraspécifiques qu'interspécifiques avec *O. glaberrima*.

Rappelons tout d'abord les principaux résultats obtenus:

- Nette dichotomie, sur la base des fertilités F1, des variétés *O. sativa* étudiées en ensembles pouvant être appelés *indica* et *japonica*. Cette partition n'est pas contradictoire avec la mise en évidence de variétés à compatibilité large.

- Importance des effets réciproques sur la stérilité des hybrides F1 intra-*O. sativa*

- Nombreuses distorsions de ségrégations observées au niveau F2, affectant tant les gamètes femelles que les gamètes mâles des hybrides F1. La région du chromosome 6 marquée par les locus *Pgi-2* et *Est-2* est un point chaud d'autant plus intéressant qu'on peut y retrouver des éléments pour une classification.

- Ainsi, bien qu'il n'y ait pas directement de relation entre la stérilité F1 et le taux de distorsion, on peut tout de même conclure que la classification basée sur des critères de polymorphisme enzymatique offre une bonne correspondance avec le niveau des barrières reproductives observées.

- *O. glaberrima* permet de révéler une variabilité originale d'*O. sativa* tant au niveau des hybrides F1 qu'à celui des rétrocroisements. Nous ajoutons aux barrières reproductives déjà connues la mise en évidence d'importantes distorsions de ségrégation et de sélections zygotiques différentielles.

## A. CONCORDANCE ENTRE CLASSIFICATIONS D'*O. SATIVA*

L'originalité de notre étude et des résultats sur les hybrides F1 intra-*O. sativa* tient en deux points.

(i) L'origine du matériel végétal tout d'abord. Les variétés africaines d'*O. sativa* n'ont jamais fait l'objet d'études importantes sur leurs relations en croisement. La classification basée sur les relations de fertilité est la première qui soit établie sur des variétés africaines.

(ii) Le type de croisements envisagés ensuite. Ce travail constitue la première étude s'intéressant à un tableau où sont étudiées les confrontations directes entre génotypes, les résultats antérieurs ayant été obtenus à partir de confrontations des variétés avec des variétés prises comme testeurs.

Cette différence entre un tableau diallèle et des croisements sur testeurs peut fournir une explication aux différences d'analyse que nous observons apparemment avec les résultats de Oka (1958) et de Morishima et Oka (1981). En effet, alors que nous concluons à une quasi-parfaite superposition de la classification enzymatique à la classification sur les fertilités, Morishima et Oka (1981) concluent pour leur part à la non-efficacité des fertilités pour retrouver la classification *indica-japonica* basée sur des critères morphophysiques (23 à 43% de variétés mal classées). Or ces auteurs basent leurs résultats sur les fertilités F1 de variétés sur des testeurs. On peut montrer sur nos résultats qu'il n'existe pas de formule simple pour discriminer nos variétés.

Ainsi, de même qu'il n'y a pas de caractère morphologique simple pour discriminer les 2 ensembles, la conclusion semble plutôt devoir être qu'il n'existe pas de testeur simple pour discriminer les variétés d'après les fertilités F1 et que seule une analyse multivariable permet de parvenir à une dichotomie claire. Il est cependant évident que dans le cadre de l'évaluation d'une collection, il n'est pas envisageable de procéder au tableau diallèle de croisement. Le choix de testeurs devient alors obligatoire.

Sur 17 variétés asiatiques testées pour leur tolérance au froid, Glaszmann et al. (1990) concluent également à la validité des classifications isozymiques pour révéler les relations de fertilité.

## B. COMPATIBILITE HYBRIDE

L'étude de la fertilité des hybrides F1 a permis de mettre en évidence, rejoignant pour partie des résultats de Clément et Poisson (1986a), une variété que nous avons qualifié de largement compatible au sens strict, BS20 et deux variétés compatibles au sens large (car comme géniteur femelle seulement), YS45-1 et YS252-1.

Il est remarquable que ces variétés soient toutes trois issues d'évènements génétiques particuliers.

L'origine des variété *aus* telles que BS20 est discutée par Second (1985) sur la base de données enzymatiques de Glaszmann. L'Inde étant un carrefour potentiel de rencontre entre riz "ancestraux" locaux *indica* et formes "ancestrales" *japonica* venues de l'autre côté de la barrière himalayenne, Second émet l'hypothèse que les variétés *aus* sont issues d'hybridation entre variétés *indica* et *japonica* par l'intermédiaire de l'espèce sauvage *O.rufipogon*. Une hypothèse peut-être plus simple est qu'une première forme intermédiaire *indica/japonica* ait ensuite été introgressée par l'espèce sauvage. La variété BS20 vient-elle d'Asie ou est-elle issue de recombinaison sur le sol africain ? Compte tenu de la distribution des riz en Afrique (de Kochko 1987) il est peu probable que BS20 soit issue d'évènements africains. Cette variété a d'ailleurs été retrouvée dans un village côtier du Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire (Pham et de Kochko 1983), ce qui est un indice pour une double introduction par la voie maritime, encore que l'hypothèse alternative d'une diffusion de la variété à partir de l'introduction guinéenne soit plausible.

De leur côté, YS45-1 et YS252-1 présentent des génotypes de type "hybride", c'est dire, au sens de Second (1982), des formules alléliques intermédiaires entre génotypes caractéristiques des pôles *indica* et *japonica*. Si on accepte en effet l'hypothèse d'une domestication indépendante des sous-espèces *indica* et *japonica* (Second 1982), les formes intermédiaires résultent d'introgressions réciproques, d'un brassage *indica-japonica*.

Peut-on interpréter ces résultats et ces données en écrivant que les formes largement compatibles résultent d'évènements consécutifs aux hybridations entre formes éloignées *indica* et *japonica* ?

Zhang (1990) rapporte sans doute le seul exemple expérimental. Bien que ce résultat soit très succinctement exposé et que le plan expérimental n'apparaisse pas, il

semble que cet auteur obtienne à partir de croisements *indica-japonica* des lignées *japonica* présentant une compatibilité large.

A notre connaissance, il n'a jamais été identifié de variétés à compatibilité large parmi les variétés "ancestrales" *indica* ou *japonica*. Cette remarque va dans le sens d'un effet de l'hybridation large et défavorise donc l'hypothèse de l'apparition d'allèles de compatibilité par mutation sans lien avec une telle hybridation, car cela supposerait que cet évènement se soit répété, sinon sous la même forme, du moins dans son effet, à chaque fois dans des populations présentant des formules alléliques intermédiaires.

Il y a donc présomption pour que l'hybridation large soit à l'origine de la compatibilité large. De quelle manière ?

On peut ici brièvement évoquer les mécanismes évolutifs d'une barrière reproductive très différente, la stérilité mâle cytoplasmique. Selon Gouyon et al. (1988), il y aurait au cours de l'évolution une "course" permanente entre gènes de stérilité mâle et gènes restaurateurs, résultant en un empilement de systèmes différents. Ceci est appuyé par le fait que, dans les cas où cela a pu être clairement démontré, la stérilité mâle provient de l'activité d'un gène, et non de l'inactivité d'un gène. De façon analogue, Dumas (1992) rapporte, lors de l'étude de systèmes d'incompatibilité, l'existence chez les plantes incompatibles de protéines supplémentaires par rapport aux plantes compatibles. La stérilité génique apparaît donc être le résultat d'une activité en plus et non d'une activité en moins.

Réciproquement, on peut imaginer que la restauration de la compatibilité pourrait ensuite provenir de l'inactivation du système de stérilité.

L'étude de croisements entre *O. glaberrima* et *O. sativa* et la démonstration par Sano (1990) de l'existence d'un "modifieur" modifiant une action "pollen killer" en action "gamete killer" confirme cette idée d'une inactivation du "pollen killer".

Une hypothèse sur l'origine des allèles de compatibilité large serait alors l'activation d'un "facteur" sous l'effet d'une hybridation entre variétés *indica* et *japonica*, transformant soit l'allèle responsable de la stérilité lui-même, soit son expression, vers une forme largement compatible. Le modèle présenté par Ghesquière (1988, 1991) sur l'activation d'un élément transposable lors d'hybridation entre *O. longistaminata* et *O. sativa* conforte en effet une idée souvent émise, mais rarement démontrée, sur l'effet d'une hybridation interspécifique sur l'activation d'éléments transposables (Sage et Selander 1979). En fait, notre hypothèse ne

requiert pas forcément de transposition, la possibilité de co-suppression (inhibition d'expression par introduction d'un gène étranger) devant également être envisagée.

Elargi aux relations interspécifiques, le problème se pose naturellement de savoir s'il existe chez *O. sativa* ou *O. glaberrima* des variétés à compatibilité large avec l'autre espèce. A notre connaissance, aucune variété n'a à ce jour été identifiée comme telle. Le résultat étonnant d'un hybride F1 *O. sativa/O. glaberrima* fertile à 64% obtenu par Bouharmont et al. (1985) nous paraît devoir être considéré avec prudence du fait de sa non-exploitation ultérieure par ces auteurs.

Si les barrières de stérilité entre les 2 espèces cultivées reposent en grande partie sur une addition de systèmes monogéniques, il serait intéressant d'étudier les possibilités existant quant à la création de fonctions de compatibilité par inactivation des gènes responsables de la stérilité.

### C. VARIABILITE CYTOPLASMIQUE

Nous avons constaté des effets importants du sens de croisement sur la fertilité des hybrides F<sub>1</sub>, semblant indiquer une variabilité cytoplasmique des variétés *indica*.

Cela peut être rapproché des résultats sur le polymorphisme de l'ADN chloroplastique présentés plus haut dans la partie *Matériels* de ce mémoire. Ceux-ci font en effet apparaître une variabilité supérieure chez les variétés *indica* par rapport aux variétés *japonica*. Ces dernières (ES70-6 n'a pas été analysé) ne présentent en effet, sur 2 enzymes de restriction, qu'un seul de patron de restriction. Oka (1988) remarquait de façon plus générale que le nombre inférieur de gènes de restauration identifiés chez les variétés *japonica* était une indication de leur moindre variabilité cytoplasmique. Cette moindre variabilité cytoplasmique des variétés *japonica* est confirmée par Ishii et al. (1992) au niveau de l'ADN chloroplastique. Il est évidemment nécessaire de relativiser nos propres conclusions du fait du faible échantillonnage. De plus, l'origine géographique des variétés joue peut-être un rôle dans la diversité observée. Ainsi, alors que toutes les variétés *japonica* étudiées proviennent de Guinée, les variétés *indica* ont des origines beaucoup plus variées. Précisons qu'il est ici hors de question de chercher une quelconque relation de cause à effet entre les marqueurs de diversité que sont les longueurs de fragments de restriction de l'ADN chloroplastique et la fertilité hybride, d'autant plus que les "groupes" définis de part et d'autre ne correspondent pas (c'est une surprise relative

de voir que BS117 et BS125 présentent des plastotypes différents alors que ces 2 variétés ont des profils spécifiques très semblables). Il nous semble plutôt que nos résultats mettent en évidence la convergence de 2 méthodes différentes sur la mise en évidence d'une diversité cytoplasmique. La réalisation de croisements sur des variétés testeurs semble susceptible de révéler une partie de la diversité cytoplasmique, et donc d'être sur ce point, une alternative intéressante à des méthodes plus sophistiquées d'évaluation.

On notera que l'importance des effets réciproques décelés dans notre étude des hybrides F1 tant pour les fertilités que pour les caractères morphologiques ne va pas dans le sens de plusieurs auteurs comme Chu et Oka,... Cependant peu d'études ont vraiment considéré ce problème, et certains auteurs ont perpétué l'idée – certainement justifiée dans de nombreux cas, probablement moins dans d'autres – que les effets du sens de croisement avaient peu d'importance. L'observation de différences entre croisements réciproques est pourtant ancienne (par exemple Velasco-Demeterio et al. 1965).

Une conséquence évidente pour la gestion des ressources génétiques des riz est qu'il faut tenir compte de cette variabilité. On ose à peine rappeler que l'archétype de la catastrophe génétique, l'épidémie d'helminthosporiose aux USA en 1973 sur les maïs à cytoplasme "Texas", relevait d'une uniformité du génome cytoplasmique. Une conservation statique de la variabilité cytoplasmique ne pose *a priori* pas trop de difficultés d'ordre quantitatif, puisque l'évaluation qu'on peut faire de cette variabilité à partir du nombre de génotypes chloroplastiques identifiés différents apparaît jusqu'ici réduite (9 pour *O. sativa*, Dally et Second 1990). Cependant, la méconnaissance des interactions nucléocytoplasmiques pose à nouveau le problème d'une conservation dynamique.

Le problème se pose également pour les schémas de sélection. Dans le cas du schéma le plus couramment utilisé (hybridation puis sélection généalogique immédiate ou différée), le sens du croisement de départ prend toute son importance puisqu'il détermine – sous l'hypothèse d'une hérédité maternelle généralement vérifiée malgré quelques exemples d'hérédité chloroplastique non strictement maternelle (Dally et Second 1990) – la nature du cytoplasme final.

## D. *O. GLABERRIMA*, REVELATEUR DE VARIABILITE

La conclusion commune à l'étude des hybrides F1 d'une part et des ségrégations dans les rétrocroisements d'autre part, est que *O. sativa* s'avère variable dans son comportement vis à vis d'*O. glaberrima*. En d'autres termes, cela signifie que *O. glaberrima* est à même de révéler une forme de variabilité d'*O. sativa*:

i) Une variation du niveau de stérilité pollinique est observée chez les hybrides F1. Les variétés qui se distinguent sont les variétés introgressées d'*O. longistaminata* (pollen très stérile) et ES44, variété *indica* (proportion plus "forte" de pollen fertile).

ii) Les descendance de rétrocroisement diffèrent à deux niveaux au moins: fertilité et distorsions de ségrégations. Le premier niveau est important car il tend à montrer qu'une restauration de la fertilité dans des croisements entre les 2 espèces cultivées sera plus ou moins rapide selon les géniteurs d'*O. sativa*. Le second niveau fait apparaître un résultat jusqu'ici inconnu, à savoir l'influence du parent *O. sativa* pollinisateur sur la proportion d'allèles de chaque espèce dans la descendance du rétrocroisement. Ces résultats ne mettant en jeu que 4 pollinisateurs *O. sativa*, il n'est pas possible d'en tirer des conclusions d'ordre taxinomique. Il n'est d'ailleurs pas certain que les classifications habituelles d'*O. sativa* soient à même de rendre compte de comportements différents face à *O. glaberrima* puisque l'espèce africaine constitue un pool génétique différent.

L'existence apparemment générale de gènes d'interaction sporogamétophytique pose le problème de l'intégration de gènes d'*O. glaberrima* dans *O. sativa*. Supposons ainsi que l'on désire introduire un caractère d'*O. glaberrima* dont le déterminisme soit oligogénique, et dont les gènes responsables soient indépendants du gène d'interaction sporogamétophytique. L'obtention de lignées d'*O. sativa* isogéniques va être ralentie par l'existence du gène d'interaction sporogamétophytique, puisque la proportion de descendants portant un allèle "parasite" G lié à ce gène est égale à  $1-p$  où  $p$  est le pourcentage de recombinaison entre le locus G et le gène d'interaction sporogamétophytique. Ceci vient donc s'ajouter aux restrictions à la recombinaison généralement répertoriées au niveau interspécifique (Paterson et al. 1990).

L'observation de la descendance //SS404 a permis de dépasser le niveau d'observation monocus pour tenter d'appréhender le niveau multilocus. Les effectifs sont cependant trop faibles pour permettre de conclure à l'élimination des

combinaisons non représentées. En revanche les résultats montrent clairement l'excès de certaines combinaisons alléliques issues du parent *O. glaberrima* WO25. En constatant sur l'ensemble des descendance que la majorité des distorsions va dans dans le sens d'un excès des allèles issus du parent *O. glaberrima*, on peut prédire que le brassage génétique entre *O. glaberrima* et *O. sativa* sera en pratique ralenti par un excès de formes alléliques de type *O. glaberrima*.

La mise en évidence de cette nouvelle manifestation des barrières reproductives, s'ajoutant aux contraintes déjà lourdes des croisements entre *O. sativa* et *O. glaberrima* et aux caractéristiques peu attractives de l'espèce africaine, conduit naturellement à une question: y-a-t-il un avenir pour *O. glaberrima*? Nous esquisserons une réponse lors de la discussion générale, après avoir étudié les descendance de rétrocroisement pour leurs caractères agromorphologiques et leur fertilité.

**TROISIEME PARTIE**

**Evolution de la variabilité  
dans des descendance de croisements  
intra- et interspécifiques**



## Chapitre X.

# INTRODUCTION A LA TROISIEME PARTIE

Nous avons présenté dans la partie précédente les observations ressortant de l'étude de l'organisation d'un échantillon de variétés d'*O. sativa*. Stérilités souvent importantes, distorsions de ségrégations souvent conséquentes, ces conclusions sont annonciatrices de difficultés quant à l'utilisation de croisements distants. Quant aux relations entre *O. sativa* et *O. glaberrima*, nos résultats confirment et documentent les fortes barrières reproductives qui séparent les deux espèces cultivées.

Les restrictions à la recombinaison sont généralement évoquées comme la plus gênante, à moyen ou long terme, des barrières reproductives dans la mesure où c'est cet obstacle qui va réellement freiner ou hypothéquer la réussite de programmes d'amélioration. En effet chez la plupart des espèces, l'obtention des plantes des premières générations soit ne pose pas de problème majeur, soit peut être accomplie en utilisant des techniques plus ou moins sophistiquées.

Nous avons eu une première approche de ces phénomènes avec les distorsions de ségrégation, qui induisent de fait une limitation des recombinaisons, en étudiant les déséquilibres de liaisons entre locus isozymiques en vue d'établir leur carte génétique (Pham et al. 1990, annexe II). Cette seconde partie de résultats a pour but d'approcher l'évolution de la variabilité, et donc la recombinaison entre génomes parentaux, dans les deux types de croisements abordés dans la première partie, à savoir intra-et interspécifiques.

Dans le cas des rétrocroisements interspécifiques *O. glaberrima/O. sativa/O. sativa* déjà étudiés pour les ségrégations de marqueurs, nous essaierons de décrire la variabilité morphologique et la fertilité des descendances de croisements, et de comparer ces descendances entre elles (Chapitre XIII).

Pour l'étude des descendance de croisements intra-*O. sativa*, nous avons opté pour une démarche plus "volontariste" en tentant de valoriser les informations apportées par les marqueurs enzymatiques. Sachant que l'évaluation du polymorphisme enzymatique a mis en évidence la rareté voire l'absence de certaines combinaisons alléliques, quel est le devenir de tels génotypes lorsqu'on les crée "artificiellement" (Chapitre XII) ? Le préalable à ces études était la recherche d'associations entre marqueurs enzymatiques et caractères morphologiques (Chapitre XI). Il était en particulier intéressant d'étudier les relations possibles entre deux niveaux de caractères impliqués dans la classification des riz cultivés: marqueurs isozymiques d'une part, et caractères agromorphologiques d'autre part.

## **Chapitre XI.**

# **RECHERCHE DE MARQUEURS GENETIQUES DE CARACTERES AGROMORPHOLOGIQUES**

### **A. INTRODUCTION**

La recherche de relations entre des marqueurs isozymiques et des caractères quantitatifs est la résultante de deux idées naturellement complémentaires qui sont l'utilisation des isozymes comme marqueurs d'une part, et le marquage des caractères quantitatifs d'autre part.

Faut-il encore rappeler l'apport important de la technique d'électrophorèse d'isozymes à l'étude des systèmes de reproduction et à la description de la variabilité génétique des végétaux ? Le riz bien sûr, le maïs, la lentille, la betterave, l'orge, le seigle, le mil, le millet, le sorgho, le caféier, le cacaoyer, l'hévéa, le cotonnier, l'aubergine, la tomate, ... représentent autant d'espèces ou complexes d'espèces pour lesquels l'analyse du polymorphisme isozymique a fourni une évaluation du niveau et de l'organisation de la diversité (voir pour revue Hamrick et Godt 1989). Si cette méthode de révélation du polymorphisme peut aujourd'hui sembler quelque peu dépassée par la technique de révélation du RFLP (Clegg 1989) du fait du nombre de marqueurs étudiés, sa robustesse fait cependant qu'elle est encore couramment employée, par exemple pour les espèces forestières.

Une fois révélé ce polymorphisme, et établi de préférence le déterminisme génétique des zymogrammes observés et la localisation chromosomique des locus impliqués, le généticien dispose alors de marqueurs d'emploi relativement simple. Les caractères les plus fréquemment marqués par des locus isozymiques sont des caractères mono- ou oligogéniques de résistance aux maladies (Melchinger 1990 pour revue, Feuerstein et al. 1990) et de résistance au froid (Guse et al. 1988). Citons également les relations mises en évidence entre les locus peroxydases et des gènes

d'incompatibilité chez l'orge (Wricke et Wehling 1985) et entre un gène de stérilité mâle et des locus peroxydase chez la tomate (Tanksley et al. 1984).

L'idée de marquer les caractères quantitatifs n'est pas une idée récente, même si cette voie de recherche est actuellement en plein essor<sup>1</sup>. Sax (1923) est classiquement cité comme le précurseur de l'idée de marquage de gènes "mineurs" par des gènes "majeurs" (Tanksley et al. 1982, Melchinger 1990, de Vienne 1990). La recherche de gènes déterminant les caractères quantitatifs (QTL: quantitative trait locus) a été essentiellement conduite sur des plantes pour lesquelles les cartes de marqueurs génétiques (isozymes, RFLP) sont suffisamment développées. Les premiers résultats notoires sont sans doute ceux de Tanksley et al. (1982) sur la tomate, plante sur laquelle sont obtenus à ce jour les résultats les plus fins (Garvey et Hewitt 1992, Martin et al. 1989; Osborn et al. 1987; Weller 1987; Weller et al. 1988, et surtout Paterson et al. 1988, 1990, 1991). Des études importantes ont également été réalisées sur le maïs (Abler et al. 1991; Kahler et Wehrah 1986; Edwards et al. 1987, 1992; Stuber et al. 1987, Bernhart 1991; Osborn et al. 1987; Beavis et al. 1991; Edwards et al. 1992; Guse et al. 1988; Ottaviano et al. 1991) et plus récemment sur le soja (Graef et al. 1989; Keim et al. 1990; Suarez et al. 1991). Vallejos et Chase (1991) ont identifié des marqueurs isozymiques de la taille du grain chez le haricot. Dirlewanger (1991) présente des résultats sur le pois. Des résultats beaucoup plus restreints ont été obtenus sur le mil (Cherkaoui 1989; Le Thi 1990), sur le plantain (van Dijk 1984; van Delden 1988), sur l'orge (Brown et al. 1988, Kjaer et al. 1991, Powell et al. 1990). Brown et al. (1988) introduisent la notion très pragmatique de "isozyme marked segment" (IMS). Burton et al. (1991) semblent reprendre une idée semblable sur le mil. On signalera enfin les travaux de Doebley (1992) et Szabo (1992) sur les QTls impliqués dans la domestication téosinte-maïs.

La nécessité de cartes génétiques fournies s'explique par la méthodologie de détection des QTls. Malgré des propositions d'approche moléculaire du problème (insertion d'éléments équivalent à une mutation contrôlée, Robertson 1985, Soller et Beckmann 1987), la recherche de QTls est en effet jusqu'ici indirecte, et se fonde sur la détection par des méthodes statistiques ou probabilistes de liaisons entre les QTls et des locus marqueurs.

Aucun résultat significatif n'avait jusqu'à présent été obtenu chez le riz, à l'exception de quelques résultats obtenus par Causse (1989), et de mise en évidence par Shenoy et al. (1990) d'une relation entre le locus *Sdh-1* et la quantité de protéines

---

<sup>1</sup>Cet essor fait que l'ensemble de références citées ci-dessous n'est en aucun cas exhaustif.

du grain. Des progrès relativement récents de la connaissance de la carte génétique des locus isozymiques du riz (Ranjhan et al. 1987, Wu et al. 1988, Brar et al. 1990, Pham et al. 1990) – même si celle-ci n'est pas aussi complète qu'il serait souhaitable chez une plante de cette importance – rendent maintenant "l'approche QTL" possible chez cette céréale, ceci avant que les développements de la carte RFLP du riz (McCouch et al. 1988, Wang et Tanksley 1989, Tanksley et al. 1991, Yano et al. 1991, McCouch et Tanksley 1991) ne soient sans doute à leur tour exploités.

Sont présentés ici les résultats sur l'identification de marqueurs génétiques (locus isozymiques à l'exception du locus de la réaction au phénol) pour quelques caractères des appareils végétatif et reproductif. Ces résultats ont été obtenus à partir de l'observation de trois descendance F2 issues de croisements impliquant cinq des variétés africaines d'*O. sativa* déjà présentées. Les résultats ayant fait l'objet d'une publication antérieure (Pham 1988, 1990) sont repris ici dans leur intégralité.

## B. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

### 1. Descendances étudiées

Les trois descendance F2 étudiées sont issues des croisements ES70-6/SS404, ES70-6/YS309 et BS20/YS45-1. Les panicules des hybrides F1 ont été ensachées pour éviter toute allopollinisation. Les grains F2 ont été semés en serre. Les plantules ont ensuite été repiquées en terrain sous filet (écartement 50x50 cm) en trois parcelles incluant chacune une descendance F2 et les lignées parentales, les parcelles étant séparées par des haies de crotalaire. Les effectifs étudiés, pour lesquels toutes les notations agromorphologiques et isozymiques sont disponibles, sont de 321 plantes pour la descendance F2 ES70-6/SS404, 184 plantes pour la descendance F2 ES70-6/YS309 et 175 plantes pour la descendance F2 BS20/YS45-1.

Le Tableau 24 présente les marqueurs étudiés dans chaque descendance. Au total, 14 locus marqueurs sont suivis, situés sur 7 des 12 chromosomes.

Par ailleurs, nous disposons avec les rétrocroisements interspécifiques de descendance suivies aux niveaux morphologique et isozymique. Seule la descendance du rétrocroisement WO25/ES70-6//SS404 présentait un effectif final (32 plantes) "suffisant" pour permettre une analyse de type QTL. Les résultats

**Tableau 24.**

Allèles en ségrégation pour les loci marqueurs suivis dans les 3 descendance F2 en vue de la recherche de QTLs.

Croisement	chr.1		2		3		
	<i>Got-1</i>	<i>Amp-1</i>	<i>Got-3</i>	<i>Est-2</i>	<i>Pgi-2</i>	<i>Cat-1</i>	
ES70-6 / YS309		1 / 2	1 / 2	0 / 1		2 / 1	
ES70-6 / SS404					1 / 2	2 / 1	
BS20 / YS45-1	2 / 1					3 / 1	

Croisement	chr.6			7		11		12
	<i>Sdh-1</i>	<i>Acp-1</i>	<i>Acp-2</i>	<i>Est-1</i>	<i>Pox-4</i>	<i>Adh-1</i>	<i>Pgd-1</i>	<i>Ph</i>
ES70-6 / YS309			0 / +	0 / 1	2 / 1		1 / 3	- / +
ES70-6 / SS404	3 / 4	9 / 4	0 / +	0 / 1	2 / 1		1 / 3	- / +
BS20 / YS45-1	2 / 3	4 / 9	+ / 0	1 / 0			2 / 1	

apportés par ce croisement sont extrêmement limités et ne sont rapportés que pour mémoire au chapitre suivant.

### 3. Méthodologie

#### a) Principe

Une analyse de variance a été faite, pour chaque caractère dans chaque descendance, sur le facteur "génotype au locus M" en incluant dans un premier temps tous les génotypes, puis, dans le cas en F2 d'allèles codominants, en ne comparant que les génotypes homozygotes. Un test significatif à au moins 5 % dans une des analyses peut être interprété ( Tanksley et al. 1982) comme l'existence d'une liaison entre le locus M et un (ou des) QTL du caractère étudié.

On s'est ensuite intéressé aux interactions entre locus. Des analyses de variance à 2 facteurs, en testant l'interaction entre facteurs, ont donc été faites pour chaque caractère dans chacune des trois descendance pour tous les couples de locus possibles.

Les paramètres a, d et d/a (degré de dominance) ont été calculés (Gallais 1989):

$$a = |m_{11} - m_{22}| / 2$$

$$d = m_{12} - (m_{11} + m_{22}) / 2$$

avec  $m_{ij}$  : moyenne des individus de la F2 portant au locus marqueur les allèles issus des parents i et j.

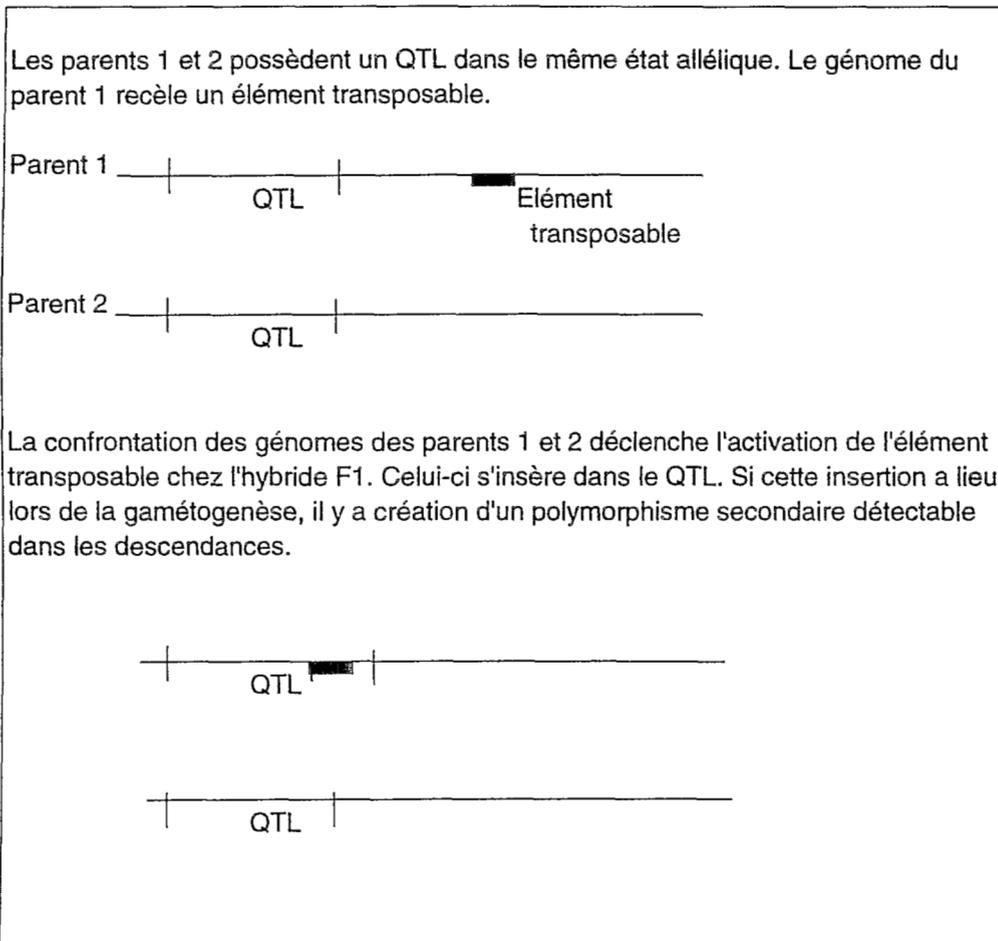
#### b) Remarques

- Le nombre de QTLs réels d'un caractère est supérieur au sens large au nombre de marqueurs présentant une liaison avec le caractère car i) on ne peut détecter que les QTLs polymorphes entre les parents (à l'exception du cas théorique, mais non exclus, de l'activation d'un élément mobile lors du croisement de départ, Figure 19) ii) un même marqueur peut être lié à plusieurs QTLs intervenant sur le caractère considéré.

- Des génotypes différents pouvant conduire à des phénotypes identiques, l'observation de phénotypes parentaux identiques ne doit pas être interprétée comme

**Figure 19.**

Apparition d'un polymorphisme secondaire à un QTL par insertion d'un élément transposable.



un monomorphisme des QTLs du caractère considéré. Il convient donc de ne pas restreindre l'analyse aux caractères pour lesquels les parents diffèrent.

- Que deux caractères aient des marqueurs communs peut s'interpréter par l'existence de QTLs communs ou par la liaison simultanée du marqueur avec des QTLs distincts (ou éventuellement les deux à la fois). Ces considérations indiquent que le sigle QTS (quantitative trait *segment*) serait plus adapté car moins réducteur que QTL. Si cette distinction peut apparaître aujourd'hui sans objet, elle pourrait l'être à l'avenir lorsque les locus véritablement impliqués dans l'élaboration des caractères quantitatifs seront manipulés en tant que tels. Cette remarque conduit également à envisager le cas où un segment contient plusieurs QTLs d'un même caractère, pouvant cumuler ainsi des allèles agissant positivement sur la valeur d'un caractère, et d'autres agissant négativement. On voit que la détection des QTLs est alors affectée.

- la présence d'épistasie peut affaiblir ou annuler l'efficacité de la détection. Par exemple, soient deux QTLs (A,a) et (B, b) en ségrégation. Si les valeurs des associations Ab, AB, ab, ab sont respectivement 1,0,0,1, on constate que la détection de ces QTLs n'est pas possible par la méthode décrite.

- Puisque la mise en évidence des QTLs repose sur la détection de leur effet sur le caractère considéré, il est facilement concevable que cet effet puisse dépendre du contexte environnemental et génétique. L'évaluation des QTLs est donc dépendante du milieu, et du génotype des parents considérés, que ce soit en terme de génome nucléaire ou de génome cytoplasmique.

- Les conclusions des tests ne s'appliquent donc qu'aux seules variétés utilisées en croisement (modèle fixe).

- Aucune hypothèse n'est faite et aucune conclusion n'est tirée quant à l'action biologique des QTLs. En cela, nous noterons que l'estimation d'un nombre minimum de gènes participant à l'élaboration d'un caractère sera au moins aussi valable que celles qui auraient résulté de méthodes opérant à partir d'hypothèses lourdes telles que, par exemple, l'égalité des effets de chaque QTL.

- Un test non-significatif peut être interprété par l'indépendance du locus marqueur et de tout QTL du caractère considéré, par une identité des allèles du QTL marqué, ou par un manque de puissance du test pour détecter un effet (risque de 2ème espèce).

**Tableau 25.**

Associations marqueurs/ caractères dans les trois descendance F2 ES70-6/YS309 (a), ES70-6/SS404 (b) et BS20/YS45-1 (c).

La majorité des comparaisons entre classes de génotypes a été faite par analyse de variance. Dans les cas où cela a été fait par comparaison de distributions avec un test chi-2, la colonne "ddl" contient la marque X2 suivi du nombre de degrés de liberté du test.

Caractère	chr.1			chr.2						chr.4		
	<i>Got-1</i>			<i>Amp-1</i>			<i>Got-3</i>			<i>Ph</i>		
	ddl	F	p	ddl	F	p	ddl	F	p	ddl	F	p
T50	a	-		ns			ns			ns		
Nbe talles à 50 j	b	-		-			-			ns		
	c	2,172	3.50	.032	-		-			-		
TAM	a	-		ns			ns			ns		
Nbe talles à maturité	b	-		-			-			ns		
	c	2,172	7.98	.001	-		-			-		
EPI	a	-		1,133	4.19	.034	ns			ns		
Date d'épiaison	b	-		-			-			ns		
	c	2,172	5.62	.004	-		-			-		
HAD	a	-		ns			ns			ns		
Hauteur	b	-		-			-			ns		
	c	ns		-			-			-		
LOD	a	-		1,133	5.76	.018	ns			1,282	7.23	.008
Longueur drapeau	b	-		-			-			1,319	8.51	.004
	c	2,172	4.08	.019	-		-			-		
LAD	a	-		ns			X2:14	26.2	.025	ns		
Largeur drapeau	b	-		-			-			1,319	39.6	.000
	c	ns		-			-			-		
LOD/LAD	a	-		ns			ns			1,282	5.44	.020
Forme du drapeau	b	-		-			-			ns		
	c	2,172	4.14	.018	-		-			-		
LOP	a	-		ns			ns			ns		
Longueur panicule	b	-		-			-			1,319	3.96	.048
	c	ns		-			-			-		
RA1	a	-		ns			ns			ns		
Nbe ramif. primaires	b	-		-			-			1,319	30.3	.000
	c	ns		-			-			-		
RA2	a	-		ns			ns			ns		
Nbe ramif. secondaires	b	-		-			-			1,319	13.8	.000
	c	ns		-			-			-		
RA2/RA1	a	-		ns			ns			ns		
Densité ram. secon	b	-		-			-			ns		
	c	1,83	4.96	.029	-		-			-		
NIE	a	-		ns			ns			ns		
Nbe insertic épillets	b	-		-			-			1,319	14.1	.000
	c	ns		-			-			-		
LOG	a	-		ns			ns			ns		
Longueur grain	b	-		-			-			ns		
	c	ns		-			-			-		
LAG	a	-		1,133	4.52	.035	ns			ns		
Largeur grain	b	-		-			-			ns		
	c	ns		-			-			-		
LOG/LAG	a	-		X2:6	13.4	.037	ns			X2:9	18.6	.028
Forme du grain	b	-		-			-			ns		
	c	ns		-			-			-		
AFE	a	-		1,133	5.12	.025	ns			ns		
Fertilité	b	-		-			-			ns		
	c	2,172	3.06	.050	-		-			-		

- De nombreuses analyses de variance sont généralement faites pour analyser ce type de données. Dans ce cas, il est probable que quelques uns des tests significatifs ne reflètent pas un effet du facteur considéré mais un effet du hasard (risque de première espèce).

Cette remarque sur l'origine aléatoire et non biologique des effets significatifs observés est souvent faite. Elle est également souvent mal appliquée. Tout d'abord dans l'évaluation du nombre attendu d'effets significatifs dus au hasard. Il est généralement faux de dire que, parce qu'on a réalisé 1000 analyses de variance à partir de 20 marqueurs et 50 caractères, on a au risque de première espèce 5% la probabilité d'observer 50 effets uniquement dûs au hasard. En effet, toutes ces analyses ne sont pas indépendantes puisque certains marqueurs seront certainement liés entre eux et que certains caractères peuvent être corrélés. L'estimation à 50 est donc surévaluée. Supposons cependant que toutes les analyses effectuées soient indépendantes et le nombre 50 exact. Une seconde erreur consiste alors à dire que si l'on n'observe que 40 effets significatifs à 5%, ceux-ci ne sont pas intéressants. La seule chose qu'on peut dire est que le nombre d'effets détectés n'est pas supérieur à celui qui serait attendu du fait du hasard (observer qu'un étudiant n'a pas plus de réponses exactes à un examen que s'il avait répondu au hasard ne signifie pas qu'il a effectivement répondu au hasard). On peut par contre écrire que la probabilité que *tous* ces effets aient une réelle signification biologique est égale à  $0.95^{40}=0.13$ . Mais ce résultat serait le même quelque soit le nombre d'analyses réalisées.

## C. RESULTATS

### 1. Identification de marqueurs génétiques de caractères quantitatifs.

Le Tableau 25 présente les résultats sur la signification des tests dans les trois descendance F2. De nombreux tests sont significatifs à un niveau largement inférieur à 5%, et on obtient pour d'autres des résultats identiques dans 2 ou 3 descendance. Cette dernière remarque ne doit pas faire oublier que des résultats différents d'une descendance à l'autre peuvent s'interpréter de plusieurs façons (cf remarques méthodologiques ci-dessus).

Le fait majeur de cette étude est la richesse des informations recueillies. La recherche d'associations entre locus marqueurs et caractères quantitatifs est

Tableau 25 (suite)

Caractère	chr.6									chr.7					
	<i>Est-2</i>			<i>Pgi-2</i>			<i>Cat-1</i>			<i>Est-1</i>			<i>Pox-4</i>		
	ddl	F	p	ddl	F	p									
T50	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-		1,146	11.4	.001		ns			ns			ns	
	c	-			ns			-			ns			-	
TAM	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-			ns			ns			ns			ns	
	c	-			ns			-			ns			-	
EPI	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-		2,318	19.0	.000		ns			ns		1,132	5.43	.021
	c	-		2,172	8.09	.001		-			ns			-	
HAD	a	1,282	10.8	.001				ns			ns			ns	
	b	-			2,318	6.67	.002			1,319	9.34	.002		ns	
	c	-			1,90	6.48	.013				ns			-	
LOD	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-			ns			ns			ns		2,234	3.70	.026
	c	-			ns			-			ns			-	
LAD	a	X2:9	19.6	.024				ns		1,282	15.7	.000	1,125	9.31	.003
	b	-			ns		2,318	7.16	.001	1,319	5.11	.025		ns	
	c	-			ns			-			ns			-	
LOD/LAD	a	ns			-			ns			ns		1,125	4.09	.045
	b	-			ns			ns			ns		2,234	4.03	.019
	c	-			ns			-			ns			-	
LOP	a	ns			-			ns		1,282	4.76	.030	1,125	4.19	.043
	b	-			1,146	5.56	.020		ns		ns			ns	
	c	-				ns				1,173	8.23	.005		-	
RA1	a	ns			-			ns		1,282	4.80	.029		ns	
	b	-			2,318	3.11	.046	1,167	4.99	.027	1,319	6.97	.009		ns
	c	-			2,172	4.05	.019				ns			-	
RA2	a	1,282	5.79	.017				ns		1,282	6.29	.013		ns	
	b	-			ns			ns			ns			ns	
	c	-			ns			-		1,173	5.86	.017		ns	
RA2/RA1	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-			ns			ns		1,319	7.03	.008		ns	
	c	-			ns			-		1,173	5.88	.016		-	
NIE	a	1,282	6.10	.014				ns		1,282	7.75	.006	1,125	4.84	.030
	b	-			ns			ns			ns			ns	
	c	-			ns			-			ns			-	
LOG	a	1,282	4.29	.039				ns		1,282	7.72	.006		ns	
	b	-			ns			ns			ns			ns	
	c	-			ns			-			ns			-	
LAG	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-			ns			ns			ns			ns	
	c	-			ns			-		1,173	5.19	.024		-	
LOG/LAG	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-			ns			ns			ns			ns	
	c	-			ns			-			ns			-	
AFE	a	ns			-			ns			ns			ns	
	b	-			2,318	8.37	.000		ns	1,319	9.03	.003		ns	
	c	-			1,90	8.78	.004				ns			-	

Tableau 25 (suite et fin)

Caractère	chr.11						chr.12					
	<i>Adh-1</i>			<i>Pgd-1</i>			<i>Sdh-1</i>			<i>Acp-1/2</i>		
	ddl	F	p	ddl	F	p	ddl	F	p	ddl	F	p
T50	a	-		ns			-			1,282	5.00	.026
	b	-		ns			1,167	8.65	.004		ns	
	c	1,86	4.11	.046	-			ns			ns	
TAM	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			ns				ns	
EPI	a	-		1,149	8.00	.005	-				ns	
	b	-		ns			1,167	4.26	.040		ns	
	c	ns		-			ns				ns	
HAD	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns			2,318	4.75	.009
	c	ns		-			ns				ns	
LOD	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	1,86	4.31	.041	-		1,88	6.73	.011		ns	
LAD	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			ns				ns	
LOD/LAD	a	-		ns			-				ns	
	b	-		1,162	3.97	.048	ns			1,170	5.53	.002
	c	1,86	4.19	.044	-		1,88	7.54	.007		ns	
LOP	a	-		ns			-				ns	
	b	-		1,162	6.46	.012	ns				ns	
	c	ns		-			ns				ns	
RA1	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns			2,318	3.24	.040
	c	ns		-			ns			2,172	7.05	.001
RA2	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			ns			1,88	7.90	.006
RA2/RA1	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			ns				ns	
NIE	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			ns			1,88	4.96	.029
LOG	a	-		ns			-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			ns				ns	
LAG	a	-		ns			-			1,282	7.69	.006
	b	-		ns			1,88	8.23	.005	2,318	7.43	.001
	c	ns		-			1,88	7.92	.006		ns	
LOG/LAG	a	-		ns			-			X2:9	18.4	.031
	b	-		ns			ns			1,170	8.68	.004
	c	ns		-			ns				ns	
AFE	a	-		1,149	6.10	.003	-				ns	
	b	-		ns			ns				ns	
	c	ns		-			1,88	5.61	.020		ns	

**Tableau 25bis.**

Relations identifiées entre ensembles de caractères et chromosomes.

x relation significative à au moins 5 %

x relation significative à au moins 1 %

Caractères	Chromosome						
	1	2	4	6	7	11	12
Précocité	x	x		x	x	x	
Hauteur				x	x		x
Tallage	x			x		x	x
Feuille	x	x	x	x	x	x	x
Panicule	x		x	x	x	x	x
Grain		x	x	x	x		x
Fertilité	x	x		x	x	x	x

fructueuse puisque au moins un effet significatif est détecté pour chaque marqueur. Réciproquement, tous les caractères étudiés s'avèrent marqués par au moins un locus.

Les QTLs détectés sont répartis sur l'ensemble des chromosomes marqués (Tableau 25bis). Il n'y a apparemment pas de spécialisation d'une région chromosomique vers des caractères particuliers.

Cependant, et bien qu'il soit impossible de faire des comparaisons rigoureuses, certains secteurs chromosomiques semblent moins denses que d'autres

en effets significatifs. Ainsi, le locus *Cat-1* est associé à deux caractères seulement, alors que sur le même chromosome 6, le secteur *Est-2/Pgi-2* marque tous les types de caractères. Les locus *Est-1*, *Got-1*, *Ph*, *Sdh-1* et *Acp-1/2* sont d'autres marqueurs très impliqués dans les liaisons avec les caractères quantitatifs.

## 2. Effets des QTLs

Après avoir identifié quelques locus marqueurs de caractères quantitatifs, on s'intéressera maintenant à l'effet des QTLs marqués. On peut chercher à savoir si le QTL marqué a un effet fort ou un effet faible sur le caractère considéré. En fait, on s'intéressera de façon beaucoup plus pragmatique à ce qu'on pourrait appeler l'effet utile du locus marqueur et qui est une fonction à la fois de l'effet du QTL marqué et de la distance génétique entre le QTL et le locus marqueur. En effet, on conçoit qu'il ne sera pas possible de distinguer un QTL à fort effet mais relativement éloigné du locus marqueur, d'un QTL à effet plus faible mais très proche de son marqueur.

Le rapport de la somme des carrés des écarts dus au facteur sur la somme des carrés des écarts totaux fournit une quantification ( $R^2$ ) de la quantité relative d'information apportée par les locus marqueurs. Les estimations qui sont ainsi obtenues vont de 2 à 8%. Ces estimations sont du même ordre de grandeur que celles obtenues lors d'expériences du même type sur le maïs (Bernhardt 1991)

Une autre approche consiste à regarder si les QTLs ont un effet positif ou négatif: l'effet sera dit positif si la classe possédant l'allèle d'un parent présente avec l'autre classe une différence allant dans le même sens que la différence entre les parents. Le Tableau 26 présente ces résultats (le caractère Fertilité n'a pas été considéré). On constate:

- une nette majorité d'effets positifs.

**Tableau 26.**

Valeurs moyennes observées par caractère pour chaque classe génotypique aux locus marqueurs significativement associés à ces caractères. La plus grande différence (diff.) entre classes est indiquée. Si cette différence va dans le sens observé entre les variétés parentales, le sens est noté "+", dans le sens inverse "-". Le symbole "het" indique les cas où l'hétérozygote diffère des deux génotypes homozygotes, "0" ceux où les parents ne diffèrent pas. Le grisé relie les caractères pour lesquels sont suspectés des QTLs communs au vu des effets voisins.

**F2 ES70-6/SS404**

<i>Est-1</i>	0/0	1/?		diff.	sens			
HAD (cm)	106	101		5	-			
LAD (cm)	2.46	2.38		0.08	+			
RA1	12.1	11.4		0.7	+			
AFE (%)	22.4	30.4		8.0				

<i>Pox-4</i>	2\2	1\2	1\1	diff.	sens	a	d	d/a
EPI (jours)	92.3	94.3	95.2	2.9	+	1.45	0.55	0.38
LOD (cm)	67.0	61.5	63.3	5.5	-	1.85	-3.65	-1.97
LOD/LAD	28.0	25.4	26.4	2.6	-	0.80	-1.80	-2.25

<i>Pgd-1</i>	1\1	1\3	3\3	diff.	sens	a	d	d/a
LOD/LAD	27.3	26.4	25.5	1.8	-	0.90	0.00	0.00
LOP (cm)	25.3	26.0	26.5	1.2	-	0.60	0.10	0.17

<i>Cat-1</i>	2\2	1\2	1\1	diff.	sens	a	d	d/a
LAD (cm)	2.33	2.38	2.49	0.16	-	0.08	-0.03	-0.38
RA1	11.1	11.7	11.7	0.6	-	0.30	0.30	1.00

<i>Acp-1</i>	9\9	9\4	4\4	diff.	sens	a	d	d/a
HAD (cm)	107	100	104	7	-	1.50	-5.50	-3.67
RA1	12.2	11.3	11.7	0.9	+	0.25	-0.65	-2.60
LOD/LAD	24.8	26.1	27.2	2.4	+	1.20	0.10	0.08
LAG (mm)	3.14	3.06	3.01	0.13	+	0.07	-0.02	-0.23
LLG	1.66	1.70	1.71	0.05	+	0.03	0.01	0.60

<i>Sdh-1</i>	3\3	3\4	4\4	diff.	sens	a	d	d/a
T50	4.81	5.78	5.95	1.14	+	0.57	0.40	0.70
EPI (jours)	96.0	94.3	93.5	2.5	-	1.25	-0.45	-0.36
LAG (mm)	3.12	3.05	3.02	0.10	+	0.05	-0.02	-0.40

<i>Ph</i>	0/0	?/+		diff.	sens			
LOD (cm)	66.3	61.6		4.7	-			
LAD (cm)	2.58	2.34		0.24	+			
LOP (cm)	26.5	25.8		0.7	+			
RA1	12.7	11.2		1.5	+			
RA2	42.3	36.7		5.6	+			
NIE	232	204		28	+			

<i>Pgi-2</i>	1\1	1\2	2\2	diff.	sens	a	d	d/a
T50	4.72	5.70	6.11	2.39	+	0.70	0.29	0.41
EPI (jours)	99.9	92.8	94.5	5.4	-	2.70	-4.40	-1.63
HAD (cm)	109.8	101.7	101.6	8.2	-	4.10	-4.00	-0.98
LOP (cm)	27.1	25.8	25.8	1.3	+	0.65	-0.65	-1.00
RA1	11.3	11.3	11.9	0.6	-	0.30	-0.30	-1.00
AFE (%)	31.2	24.4	34.0	9.6				

Tableau 26 (suite)

## F2 ES70-6/YS309

<i>Amp-1</i>	1\1	1\2	2\2	diff.	sens	a	d	d/a
EPI (jours)	99.3	99.9	97.3	2	+	1.00	1.60	1.60
LOP (cm)	496	504	550	54	-	27.00	-19.00	-0.70
LOG (mm)	843	839	858	19	-	7.50	-11.50	-1.53
LAG (mm)	351	350	344	17	+	3.50	2.50	0.71
LOG/LAG	2.41	2.41	2.50	0.09	-	0.04	-0.04	-1.00
AFE (%)	49.6	59.1	58.8	9.5				

<i>Pox-4</i>	2\2	1\2	1\1	diff.	sens	a	d	d/a
LAD (cm)	2.41	2.31	2.26	0.15	+	0.08	-0.02	-0.33
LOD/LAD	21.1	22.1	23.3	2.2	+	1.10	-0.10	-0.09
LOP (cm)	28.3	27.1	27.2	1.1	+	0.55	-0.65	-1.18
NIE	186	180	169	17	+	8.50	2.50	0.29

<i>Est-1</i>	0\0	1/?		diff.	sens
LAD (cm)	24.1	22.6		1.5	+
LOP (cm)	281	273		8	+
RA1	11.0	10.4		0.6	+
RA2	32.0	28.9		3.1	+
NIE	188	172		9	+
LOG (mm)	8.6	8.4		0.2	+

<i>Acp-2</i>	0\0	?/+		diff.	sens
TAM	19.7	23.0		3.3	+
LAG (mm)	3.54	3.47		0.07	+
LOG/LAG	2.38	2.44		0.06	-

<i>Ph</i>	0\0	?/+		diff.	sens
LOD (cm)	47.6	52.5		4.9	-
LOD/LAD	21.0	22.6		1.6	+
LAG (mm)	3.52	3.47		0.05	+
LOG/LAG	2.38	2.44		0.06	-

<i>Est-2</i>	0\0	1/?		diff.	sens
HAD (cm)	97.6	90.7		6.9	+
LAD (cm)	2.39	2.29		0.1	+
RA2	32.4	29.1		3.3	+
NIE	190	173		17	+
LOG (mm)	8.55	8.42		0.13	+

<i>Got-3</i>	1\1	1\2	2\2	diff.	sens	a	d	d/a
LAD (cm)	2.32	2.34	2.21	0.11	+	0.05	0.08	1.36

<i>Pgd-1</i>	1\1	1\3	3\3	diff.	sens	a	d	d/a
EPI (jours)	98.8	98.8	101.4	2.6	+	1.30	-1.30	-1.00
AFE (%)	62.5	52.7	52.8	9.7		4.85	-4.95	-1.02

Tableau 26 (suite et fin)

## F2 BS20/YS45-1

<i>Sdh-1</i>	2\2	2\3	3\3	diff	sens	a	d	d/a
LOD (cm)	62.1	60.5	57.5	4.6	+	2.30	0.70	0.30
LOD/LAD	24.8	24.3	22.4	2.4	+	1.20	0.70	0.58
LAG (mm)	3.14	3.25	3.30	0.16	+	0.08	0.03	0.38
AFE (%)	56.6	56.3	44.4	12.2		6.10	5.80	0.95

<i>Pgi-2</i>	3\3	3\1	1\1	diff.	sens	a	d	d/a
EPI (jours)	90.5	92.4	96.1	5.6	+	2.80	-0.90	-0.32
HAD (cm)	96.8	97.8	103.7	6.9	+	3.45	-2.45	-0.71
RA1	105.6	115.9	116.0	10.4	+	5.20	5.10	0.98
AFE (%)	46.2	54.1	62.3	16.1		8.05	-0.15	-0.02

<i>Acp-1</i>	4\4	4\9	9\9	diff.	sens	sens	d	d/a
RA1	10.6	11.0	12.2	1.6	+	0.80	-0.40	-0.50
RA2	34.2	36.8	40.7	6.5	+	3.25	-0.65	-0.20
NIE	202	210	230	28	+	14.00	-6.00	-0.43

<i>Got-1</i>	2\2	2\1	1\1	diff.	sens	a	d	d/a
T50	7.98	9.09	7.48	161	het	0.25	1.36	5.44
TAM	32.3	32.0	25.8	6.5	+	3.25	2.95	0.91
EPI (jours)	92.8	91.3	96.0	4.7	+	1.60	-3.10	-1.94
LOD (cm)	59.7	62.2	56.4	58	+	1.65	4.15	2.52
LOD/LAD	23.6	24.9	22.2	1.4	+	0.70	2.00	2.86
RA2/RA1	3.44	3.39	3.00	0.44	+	0.22	0.17	0.77
AFE (%)	52.9	50.2	63.7	13.5		5.40	-8.10	-1.50

<i>Est-1</i>	1/?	0/0	diff.	sens
LOP (cm)	28.5	30.3	1.8	0
RA2	40.5	35.9	4.6	-
RA2/RA1	3.22	3.57	0.35	-
LAG (mm)	3.20	3.30	0.10	+

<i>Adh-1</i>	2\2	1\2	1\1	diff.	sens	a	d	d/a
T50	9.20	8.56	7.62	1.58	+	0.79	0.15	0.19
LOD (cm)	63.1	60.3	58.2	4.9	+	2.45	-0.35	-0.14
LOD/LAD	25.6	23.6	23.3	2.3	+	1.15	-0.85	-0.74

- que la plupart des effets négatifs sont observés dans la descendance du croisement intersubspécifique ES70-6/SS404.
- que dans les 13 cas où des effets sont observés pour un même marqueur dans deux descendance différentes, 8 montrent des effets allant dans le même sens, et 5 des effets de sens opposé.

### 3. Interactions entre locus

Le Tableau 27 présente les interactions significatives observées dans chaque descendance. Leur nombre est faible: 4 à 6 par descendance, et sans commune mesure avec le nombre d'effets individuels détectés. Cependant on observe que 10 des 15 marqueurs utilisés sont impliqués dans au moins une interaction.

On identifie au moins une interaction significative pour chacune des classes de caractères à l'exception de la fertilité. Bien qu'il soit toujours délicat d'interpréter une absence d'effet, celle-ci est à rapprocher du fait qu'aucun modèle de stérilité ne fait intervenir d'interaction entre deux ou plusieurs locus du sporophyte.

Dans la plupart des cas, les locus impliqués dans des interactions ne le sont pas à titre individuel pour les mêmes caractères. Cela signifie donc que des QTLs supplémentaires sont mis en évidence.

On ne retrouve jamais la même interaction dans deux descendance différentes. Avouons que nous aurions préféré commenter la situation inverse en mettant en valeur l'aspect confirmation des résultats. On observe en revanche des locus impliqués plusieurs fois dans des interactions pour le même caractère (*Est-1* pour les dimensions du grain, *Pgd-1* pour la panicule, *Ph* pour la panicule). La spécificité des interactions par croisement peut-elle être considérée comme un élément supplémentaire du polymorphisme ?

### 4. Marqueurs et corrélations

L'identification de marqueurs des caractères quantitatifs peut-elle apporter des informations sur les corrélations entre caractères ? Peut-on en effet expliquer les corrélations entre caractères par l'existence de QTLs communs ou par des liaisons génétiques entre QTLs distincts ?

**Tableau 27.**

Interactions bi-locus mises en évidence pour quelques caractères dans les 3 descendance F2. Les locus marqués d'un astérisque présentent un effet à titre individuel.

Caractère	F2 ES70-6 /YS309			F2 ES70-6 /SS404			F2 BS20/YS45-1		
	Locus		p	Locus		p	Locus		p
T50	<i>Pgd-1</i>	<i>Got-3*</i>	0.01				<i>Acp-1</i>	<i>Got-1*</i>	0.051
							<i>Acp-1</i>	<i>Adh-1</i>	0.003
EPI				<i>Sdh-1</i>	<i>Est-1</i>	0.016			
HAD	<i>Ph</i>	<i>Cat-1</i>	0.029						
	<i>Acp-2</i>	<i>Got-3</i>	0.023						
LOD				<i>Sdh-1</i>	<i>Est-1</i>	0.004			
				<i>Ph</i>	<i>Pgi-2</i>	0.021			
LAD	<i>Acp-2</i>	<i>Est-2</i>	0.014				<i>Acp-1</i>	<i>Got-1</i>	0.007
LLD				<i>Sdh-1</i>	<i>Est-1</i>	0.016			
RA1	<i>Pgd-1</i>	<i>Got-3</i>	0.044						
RA2	<i>Pgd-1</i>	<i>Got-3</i>	0.011						
	<i>Ph</i>	<i>Est-1*</i>	0.026						
NIE	<i>Pgd-1</i>	<i>Got-3</i>	0.011	<i>Ph</i>	<i>Pgd-1</i>	0.025			
LOG	<i>Pgd-1</i>	<i>Est-1</i>	0.039				<i>Sdh-1</i>	<i>Got-1</i>	0.012
LAG				<i>Pgi-2</i>	<i>Est-1</i>	0.003	<i>Adh-1</i>	<i>Est-1</i>	0.049
				<i>Sdh-1*</i>	<i>Pgd-1</i>	0.009			
LLG							<i>Adh-1</i>	<i>Est-1</i>	0.012

Pour simplifier l'analyse et comparer plus aisément les marqueurs impliqués entre variables corrélées ou non, on s'est ramené aux groupes de variables qui définissent les 4 premiers axes d'une ACP effectuée sur chacune des 3 descendances F2. On s'intéressera ici à l'interprétation des axes. Leur orthogonalité permet en effet d'interpréter les combinaisons de variables qui les définissent comme des variables indépendantes.

L'examen du Tableau 28 montre qu'il n'y a pas de relation claire entre marqueurs communs et corrélations, puisqu'on observe des variables corrélées ayant des marqueurs communs et d'autres n'en ayant pas, tandis que des variables situées sur des axes indépendants se trouvent avoir des marqueurs communs.

Dans un sens ou dans l'autre, ces résultats sont interprétables. Aussi est-il préférable de s'intéresser aux caractères corrélés possédant des marqueurs communs puisque ce sont finalement les seuls à apporter des données intéressantes.

Dans la descendance F2 ES70-6/SS404, largeur du drapeau et nombre de ramifications primaires sont très significativement corrélés ( $r=.431$ ) et possèdent 3 marqueurs communs *Est-1*, *Cat-1* et *Ph*. Ces 3 QTLs semblent avoir des modes d'action voisins et on ne peut exclure la pleiotropie.

Dans la descendance F2 ES70-6/YS309, largeur du drapeau et nombre de ramifications secondaires sont très significativement corrélés ( $r=.387$ ) et possèdent 2 marqueurs communs (*Est-1* et *Pgi-2*) dont l'action va dans le même sens.

Dans la descendance F2 BS20/YS45-1, longueur du drapeau et durée du cycle sont significativement corrélés ( $r=.202$ ). Ils ont 2 marqueurs communs *Sdh-1* et *Got-1* agissant positivement mais avec des degrés de dominance opposés.

**Tableau 28.**

QTL et corrélations: On indique pour chaque axe d'une ACP sur la F2 les variables les plus corrélées. Les marqueurs présentant une relation avec ces variables sont repérés par X (effet individuel) et/ou & (effet d'interaction).

**F2 ES70-6/YS309**

Locus	Axe 1						Axe 2		Axe 3			Axe 4	
	RA2	NIE	LOP	LOD	LAD	HAD	RA1	DPA	ARG	LOG	LAG	T50	TAM
<i>Amp-1</i>				X		X				X	X		
<i>Est-2</i>	X	X			X					X			
<i>Cat-1</i>						&							
<i>Acp-2</i>						&					X		X
<i>Ph</i>	&			X		&				X			
<i>Got-3</i>	&	&				&	&					&	
<i>Pgd-1</i>	&	&					&					&	
<i>Est-1</i>	X&	X	X		X					X			
<i>Pox-4</i>		X	X		X					&			

**F2 ES70-6/SS404**

	Axe 1				Axe 2		Axe 3	Axe 4
	LAD	RA1	RA2	NIE	LOD	LLD	LOG	LAG
<i>Cat-1</i>	X	X						
<i>Pgi-2</i>		X			&			&
<i>Acp-1</i>		X						X
<i>Sdh-1</i>					&	&		X
<i>Ph</i>	X	X	X	X	X			
<i>Est-1</i>	X	X			&	&		&
<i>Pox-4</i>				X	X			
<i>Pgd-1</i>					X			&

**F2 BS20/YS45-1**

	Axe 1			Axe 2			Axe 3		Axe 4
	RA2	NIE	R21	LLD	LOD	EPI	LOG	LGG	T50
<i>Acp-1</i>	X	X							
<i>Sdh-1</i>				X	X	X	&		&
<i>Got-1</i>			X	X	X	X	&		X
<i>Pgi-2</i>									
<i>Adh-1</i>				X	X			&	X
<i>Est-1</i>	X		X		X			&	

## D. DISCUSSION

### 1. Nombre de QTLs détectés

Il est relativement surprenant d'observer tant de liaisons avec si peu de marqueurs. Ceci n'est pas spécifique au riz (de Vienne 1990). La détection des QTLs est fonction de leur distance au marqueur et de l'intensité de leur effet relatif. La probabilité étant peu élevée d'avoir à chaque fois, pour un nombre aussi restreint de marqueurs, des distances faibles, on peut supposer qu'il existe un certain nombre de QTLs majeurs.

### 2. Interactions entre locus

De Vienne (1990), Suarez et al. (1991) relèvent l'apparente rareté des mises en évidence de manifestations d'épistasie. Chez le maïs, Edwards et al. (1987), sont apparemment dans ce cas et signalent qu'ils ont moins d'interactions significatives que le nombre attendu du fait du seul hasard. Sur la tomate (Tanksley et al. 1982, Weller et al. 1988), ces effets apparaissent cependant plus nombreux, notamment pour le poids du fruit. La proportion d'interactions détectées est du même ordre que celle que nous observons. Il y a à l'évidence un problème de détection de ces effets. Nous avons évoqué en préalable la présence d'épistasie comme pouvant affaiblir la détection des QTLs. La proposition réciproque est que les QTLs détectés sont ceux présentant peu d'épistasie.

### 3. Répartition des QTLs dans le génome

#### a) Comparaison avec la carte génétique d'*O. sativa* et les résultats antérieurs.

Certains des résultats peuvent être rapprochés de quelques informations connues sur la carte génétique du riz:

- Bien que nous ne puissions pas identifier les gènes de stérilité mis en cause, l'association que nous observons entre la fertilité et le segment chromosomique *Est-2/Pgi-2* peut être reliée aux données sur la carte génétique qui localisent ces locus isozymiques sur le chromosome 6 au voisinage de nombreux systèmes de stérilité ou de certation.
- La liaison du locus *Pgi-2* avec la précocité est confirmée par des résultats de Imuta et al. (1991).

- Oka (1978) rapporte des corrélations significatives entre la hauteur et la fertilité. L'existence de marqueurs communs tels que *Est-1* et *Pgi-2* pourrait apporter des bases génétiques à ces observations.

L'examen des résultats de Causse (1989), établis sur des descendance de rétrocroisement *O. longistaminata/O. sativa//O. sativa* ne montre aucun résultat commun pour ce qui était comparable, à l'exception du locus réaction au phénol. Ceci montre toute l'influence du choix des géniteurs sur la détection de QTLs.

### **b) Nombre de QTLs et distribution dans le génome**

Les gènes contribuant à chacun des caractères étudiés apparaissent largement répartis dans le génome. Ils le sont d'autant plus si on considère les interactions mises en évidence.

Cette dispersion a également été notée chez le maïs et la tomate. Ainsi, sur la tomate, Paterson et al. (1988) mettent en évidence 6, 5, et 4 QTLs pour respectivement, le poids, la concentration en sucres solubles et le pH du fruit. Pour chacun de ces caractères, il y a autant de chromosomes concernés que de QTLs.

### **c) "Syndrome de domestication"**

Six chromosomes apparaissent impliqués dans l'élaboration de la structure paniculaire. Bien qu'il ne soit pas démontré qu'un nombre aussi important de gènes soit impliqué chez le riz dans le passage d'une panicule de type sauvage à une panicule de type cultivé, il est tentant de comparer cette organisation pour un des caractères impliqués dans le processus de domestication (Harlan 1975) avec celle des gènes gouvernant la morphologie de l'épillet chez le mil (Rey-Herme 1982, Pernès 1985). Ces auteurs ont montré que cinq gènes (longueur du pédicelle, shedding, forme des enveloppes, longueur et densité des soies) sont localisés au voisinage les uns des autres sur le même chromosome. D'après Pernès, cette situation serait une condition préalable à la domestication d'une plante allogame comme le mil puisque la structure allélique de type cultivé ("syndrome de domestication") ne pourrait être maintenue face au flux d'allèles sauvages que grâce à cette structure relativement rigide. La proposition concernant les plantes autogames apparaît naturellement: une organisation en linkats n'est pas nécessaire puisque le mode de reproduction joue là un rôle fixateur. Nos observations iraient dans ce sens.

#### 4. Une petite expérience

L'expérience qui va être décrite ne se veut pas exemple de sélection assistée par marqueurs. Ou alors très naïve. Une fois établie les relations entre marqueurs et caractères agromorphologiques, il était tentant de chercher à manipuler quelque peu ces associations.

L'étude de la descendance F2 du croisement BS20/YS45-1 a permis de mettre en évidence des liaisons entre quelques couples marqueurs enzymatiques - caractères agromorphologiques.

Ainsi, le locus *Pgi-2* est apparu lié à la précocité et au nombre de ramifications primaires de la panicule. Les plantes homozygotes *Pgi-2<sup>1</sup>2<sup>1</sup>* (= génotype parental YS45-1) sont plus tardives et ont des panicules plus ramifiées que les plantes *Pgi-2<sup>3</sup>2<sup>3</sup>* (= génotype parental BS20).

Le nombre de ramifications primaires est également lié aux locus *Acp-1*, *Got-1* et *Sdh-1*. Tous les allèles de YS45-1 vont dans le sens d'un plus grand nombre de ramifications.

L'expérience a pour objectif d'évaluer l'impact d'une sélection sur critères enzymatiques sur la distribution à la génération suivante des caractères de précocité et de ramification primaire de la panicule.

Différentes options de sélection ont été prises:

- Descendance SSD (Single Seed Descent) obtenue à partir d'un échantillon aléatoire de plantes F2: C'est la descendance témoin. Elle est notée Fssd
- Descendance SSD obtenue à partir de plantes homozygotes *Pgi-B3B3*: on attend un gain sur la précocité moyenne. Cette descendance est notée Fpgi
- Descendance SSD obtenue à partir de plantes hétérozygotes *Pgi-B1B3*. Ce choix permet de ménager une génération de recombinaison pour tenter d'atténuer l'antagonisme entre précocité et nombre de ramifications primaires. La descendance est notée Fhet

##### a) Dispositif expérimental

Le semis a été fait en terrine. Le repiquage en champ à Adiopodoumé a eu lieu trois semaines plus tard. Les plantes ont été disposées selon un dispositif en randomisation totale, l'espacement entre plantes étant de 50 cm. Les effectifs finaux

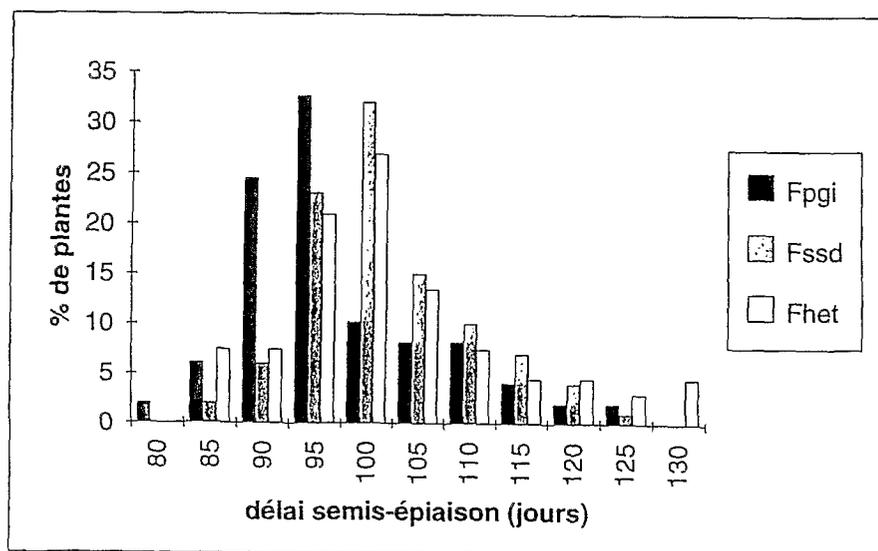
**Tableau 29.**

Moyennes de quelques caractères observés chez les trois descendance F3 issues du croisement BS20 /YS45-1.

	Nbe de talles à 50jours	Durée cycle semis-épiaison (jours)	Hauteur (cm)	Longueur drapeau (cm)	Largeur drapeau (cm)	Nbe ramif. primaires
<i>Parents</i>						
BS20	7.33	94.3	42.5	30.9	1.21	7.4
YS45-1	5.24	110.7	67.9	31.1	1.95	12.2
<i>Descendances</i>						
Fssd	8.26	101.8	56.2	35.1	1.63	10.1
Fpgi	7.94	97.1	57.4	32.5	1.56	9.7
Fhet	8.25	102.3	55.8	33.3	1.63	10

**Figure 20.**

Distribution de la durée de l'intervalle semis-épiaison dans chacune des trois descendance F3 issues du croisement BS20/YS45-1.



étudiés sont respectivement de 100, 67 et 49 pour les descendance Fssd, Fhet et Fpgi.

### b) Résultats

Le Tableau 29 indique la valeur moyenne des différents caractères dans chaque descendance.

La descendance Fpgi, conformément aux prévisions, présente une distribution nettement plus orientée vers les valeurs de cycle court que les 2 autres descendance Fssd et Fhet. (Figure 20). La comparaison des distributions réparties en 8 classes montre qu'elles sont significativement différentes ( $\chi^2_{14 \text{ ddl}} = 33.78 \text{ p}=.002$ ). La durée moyenne de cycle des plantes de la descendance Fpgi est inférieur de près de 5 jours aux plantes issues de la SSD ordinaire.

En revanche, cette descendance ne présente pas pour le nombre de ramifications primaires une distribution significativement différente de celles des descendance Fssd et Fhet.

Si on examine maintenant la corrélation entre les variables Longueur de cycle et Nombre de ramifications primaires, on constate que sont observés pour ce paramètre (Tableau 30) des résultats conformes aux prévisions.

En effet, l'objectif de "briser" la corrélation entre les 2 caractères apparaît atteint. Le maintien d'une génération de recombinaison a eu un effet immédiat sur la relation entre caractères.

**Tableau 30.**

Comparaison de la corrélation phénotypique entre nombre de ramifications primaires de la panicule et durée du cycle semis-épiaison dans les descendance F3 BS20/YS45-1 sélectionnées sur différents critères.

<i>Descendance</i>	<i>Fssd</i>	<i>Fpgi</i>	<i>Fhet</i>
Corrélation	0.273	0.354	0.178
signification	0.010	0.012	0.150



## CHAPITRE XII. EVOLUTION DE LA VARIABILITE DANS LA DESCENDANCE D'UN CROISEMENT JAPONICA / INDICA

J'ai choisi de présenter ici les résultats obtenus sur la descendance du croisement *japonica/indica* ES70-6/SS404. Ce croisement est, au vu des résultats déjà présentés, relativement représentatif de croisements distants chez *O. sativa*: faible fertilité F1, nombreuses distorsions de ségrégation.

Le croisement entre ces deux variétés offrait la possibilité théorique de créer dans la population F2 des combinaisons alléliques qui ne sont observées qu'en fréquence faible ou nulle dans les variétés traditionnelles. Ainsi, les combinaisons alléliques  $Acp-I^{-4}/Ph^{-}$  et  $Acp-I^{+9}/Ph^{+}$  sont très rares parmi les formes cultivées. Ghesquière et Second (1985) n'en recensent respectivement que 5 et 2, contre 39 et 100 pour les combinaisons  $Acp-I^{+9}/Ph^{-}$  et  $Acp-I^{-4}/Ph^{+}$  qui caractérisent les variétés *japonica* et *indica*. Quelle peut-être l'origine d'une telle situation ? Ces déficits sont ils dûs à une dérive aléatoire ou sont-ils le résultat d'une contre-sélection ? On disposait ici d'une expérience permettant de vérifier si ce déficit pouvait avoir pour origine une sélection gamétique ou zygotique dès les premières générations.

**Tableau 31.**

Rappel de la conformité des ségrégations observées dans la descendance F2  
ES70-6/SS404.

0: ségrégation mendélienne; +: ségrégation anormale

3			6			7			11	1 2
<i>Est-2</i>	<i>Pgi-2</i>	<i>Cat-1</i>	<i>Sdh-1</i>	<i>Acp-1</i>	<i>Acp-2</i>	<i>Est-1</i>	<i>Pox-4</i>	<i>Est-9</i>	<i>Pgd-1</i>	<i>Ph</i>
+	+	0	+	+	+	0	0	0	0	+

**Tableau 32.**

Effectifs théoriques et observés des combinaisons alléliques possibles  
à partir des structures parentales (effectif total 358) dans la  
descendance F2 ES70-6/SS404.

	<i>Pgi-1</i>	<i>Pgi-2</i>	<i>Cat-1</i>	<i>Est-2</i>	Fréquence théorique	Effectif théorique	Effectif observé
ES 70.6	2	1	2	0	0.04	14.24	2
Structures types	2	1	2	2	0.0225	8.01	8
	2	1	1	0	0.04	14.24	6
	2	1	1	2	0.0225	8.01	10
	SS 404	2	2	1	2	0.06	21.36
Structures hors-types	2	2	2	0	0.025	0.89	2
	2	2	2	2	0.06	21.36	29
	2	2	1	0	0.025	0.89	0

## A. DESCENDANCE F2

Le protocole expérimental d'étude de la descendance F2 été décrit au chapitre précédent page 139.

### 1. Ségrégations de marqueurs.

Le Tableau 31 rappelle les résultats obtenus sur les ségrégations de marqueurs dans la F2 ES70-6/SS404. Dans cette descendance a également été observée une restriction à la recombinaison entre les locus estérase *Est-2* et phosphatase acide *Acp-1* (Pham et al. 1990, annexe II).

Les résultats présentés dans le Tableau 32 apportent une réponse nette à une des questions posées: il ne semble pas y avoir de sélection en défaveur des combinaisons alléliques identifiées comme rares parmi les variétés traditionnelles africaines. Ceci apparaît vrai tant pour les combinaisons impliquant les locus *Pgi-1*, *Pgi-2*, *Cat-2* et *Est-2*, que pour les recombinants entre les locus *Acp-1* et *Ph*.

### 2. Caractères agromorphologiques

La signification des axes issus de l'ACP est donnée dans le Tableau 33. L'axe 1 s'interprète comme l'axe des variables paniculaires, de hauteur, et de largeur de la feuille paniculaire. L'axe 2 est marqué par la longueur de feuille. Longueur et largeur de grain définissent respectivement les axes 3 et 4.

La Figure 21 montre un nuage F2 orienté vers le parent SS404. Ce retour sur la forme parentale pourrait s'expliquer par une dominance des allèles du parent *indica*. En fait, l'observation des hybrides F1 n'a pas montré d'observation générale en ce sens. Une explication plausible est alors fournie par les résultats des ségrégations isoenzymatiques. La forte tendance à un excès des allèles *indica* observé au niveau des ségrégations isozymique suggère que ces distorsions pourrait être à l'origine de cette dominance apparente de la forme *indica*.

On peut en effet se reporter aux résultats du chapitre précédent pour constater que nombre des locus présentant des distorsions présentent des associations significatives avec des caractères morphologiques. Il est logique de prévoir que si un locus marqueur est lié à un QTL d'un caractère donné, un excès d'un des deux allèles du marqueur va "tirer" la descendance vers des valeurs du caractère correspondant à

**Tableau 33.**

Description des quatre premiers axes d'une ACP sur les caractères agromorphologiques de la descendance F2 ES70-6/SS404: part de l'inertie totale, caractères impliqués (corrélation).

Caractère	F2 ES70-6/SS404			
	Axe 1 36.1%	Axe 2 24.0%	Axe 3 13.7%	Axe 4 10.8%
<i>Var. actives</i>				
T7				
EPI				
HAD	0.48			
LOD		0.83		
LAD	-0.88			
TAM				
LOP				
RA1	0.81			
RA2	0.87			
NIE	0.90			
LOG			0.84	
LAG				0.90
LLD		0.79		
ARD		0.63		
LLG			0.70	0.60
ARG			0.63	
R21	0.53			
DPA	0.62			

**Figure 21.**

Plan défini par les 2 premiers axes de l'ACP sur les caractères agromorphologiques de la descendance F2 ES70-6/SS404. Parents et F1 sont projetés en individus supplémentaires (point moyen s: SS404, e: ES70-6, h: F1).

- : plantes dont les grains présentent une réaction au phénol négative  
● : réaction au phénol positive

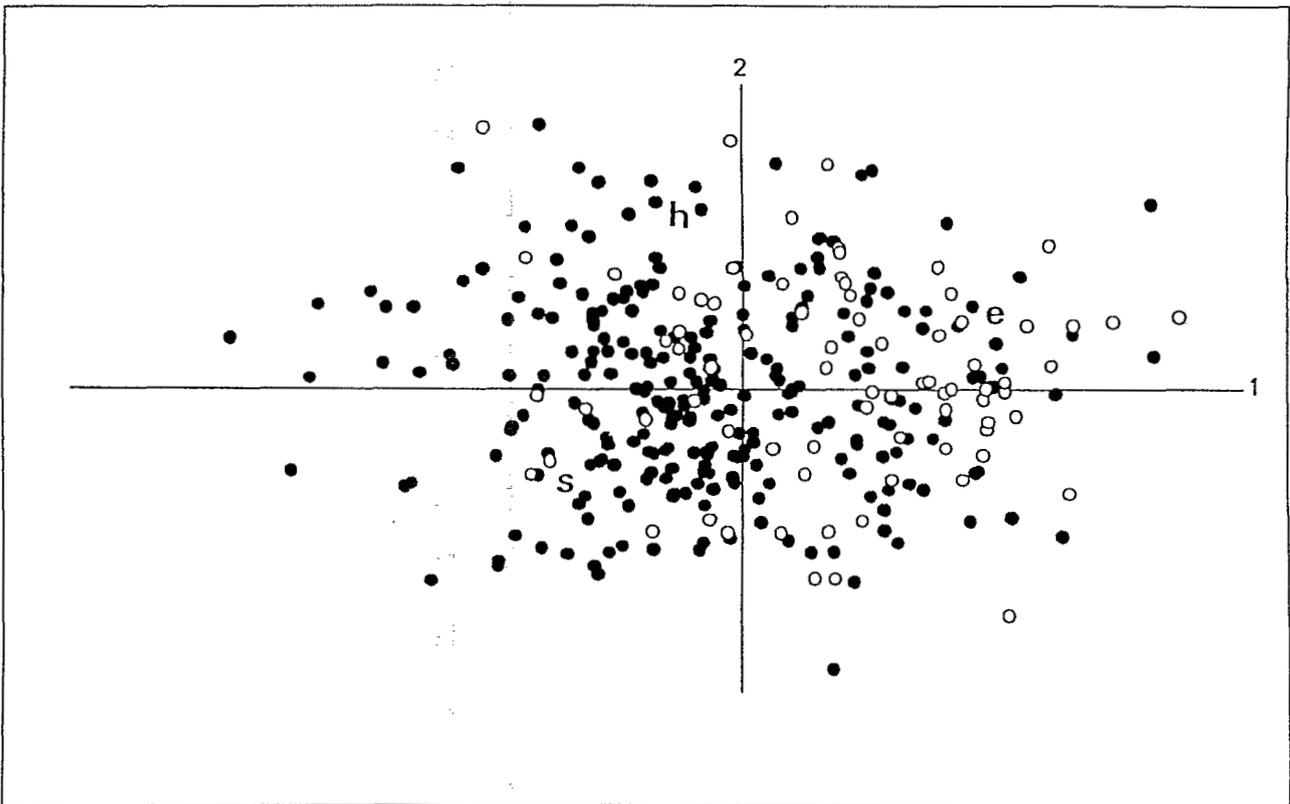


Tableau 35.

Nombre de familles F3 étudiées par génotype de plante mère F2

		<i>Cat-1</i>	<i>Est-2</i>	
			0	2
<i>Pgi-2</i>	1	1	3	6
		<i>H</i>		2
		2	2	1
	2	1		1
		<i>H</i>		21
		2		2
2	1		17	
	<i>H</i>		7	
	2	1	15	

		<i>Ph</i>	
		-	+
<i>Acp-1</i>	9	5	21
	<i>H</i>	6	16
	-4	8	18

l'effet du QTL marqué. La présence d'effets négatifs à certains locus ne facilite cependant pas une vue d'ensemble.

Pour vérifier cette hypothèse d'un effet des distorsions sur la variabilité morphologique, on a procédé de la manière suivante. Une CAH est effectuée en prenant comme variable chacune des quatre premières variables factorielles issues de l'ACP. Quatre groupes sont constitués sur chaque axe. On cherche ensuite si la répartition des génotypes à chaque locus isozymique est la même dans chacune des classes.

On observe que les 4 classes établies sur l'axe 1 (Tableau 34) diffèrent pour leur composition génotypique au locus *Ph*. Plus on considère une classe proche du parent *indica* SS404, plus elle contient de phénotypes [Ph+]. On s'aperçoit donc que l'on retrouve dans la descendance F2 une partition *indica-japonica* basée sur la réaction au phénol (Figure 21).

Sur les autres axes, aucune différence entre classes n'est constatée pour les fréquences de génotypes enzymatiques.

## B. DESCENDANCE F3

L'objectif de l'expérimentation est d'étudier les familles F3 issues de plantes F2 de génotypes enzymatiques particuliers. Ces génotypes sont notamment des recombinants entre les locus *Acp-1* et *Ph*. On s'intéresse également aux recombinaisons entre les locus *Pgi-2*, *Est-2* et *Cat-1*.

On étudiera donc ici un échantillon non aléatoire de familles F3 issues de plantes mères F2 de profil isozymique connu.

### 1. Protocole expérimental

86 familles F3 ont été étudiées, toutes obtenues par autofécondations contrôlées de plantes F2, de même que les semences des lignées parentales ES70-6 et SS404. Le génotype des plantes mères F2 est donné dans le Tableau 35.

Les graines ont été semées en serre en petits pots de 15cl. Les plantules ont été repiquées en champ à 4 semaines.

Chaque famille comprenait en général 20 individus, répartis en 2 lignes de 10 individus. L'espacement entre lignes d'une même famille était de 40 cm et de 60

**Tableau 36.**

Moyenne et écart type de quelques caractères  
dans l'ensemble des 77 familles F3

Caractère	Moyenne	Ecart-type
Longueur du drapeau (cm)	44.3	5.3
Largeur du drapeau (cm)	1.92	0.27
Longueur/Largeur drapeau	23.7	4.2
Hauteur (cm)	111.7	11.8
Longueur de la panicule (cm)	22.7	2.3
Nbe de ramifications primaires	9.85	1.78
Nbe de ramifications secondaires	23.2	7.2
Nbe d'insertions d'épillets	132	35.4

cm entre lignes de familles différentes. Les familles ont été réparties au hasard dans 4 parcelles. Chacune des variétés parentales était représentée par 2 fois 2 lignes de 10 individus par parcelle. Quatre lignes de bordures ont été disposées sur le bord latéral des parcelles.

Une fumure de fond (NPK 10-18-18) a été apportée avant implantation. Au cours de l'essai, ont été apportés urée et NPK 10-18-18. Des traitements phytosanitaires (Decis, Thymul) ont été régulièrement effectués. Ils n'ont pu empêcher certains numéros d'être très attaqués par une maladie d'origine vraisemblablement bactérienne. Les numéros ont été retirés de l'analyse. Un filet a été installé pour protéger la récolte contre les oiseaux.

Des problèmes de germination ont conduit à ressemer 26 numéros et à implanter l'essai en 2 fois, à 2 semaines d'intervalle. En comparant *a posteriori* des lignées parentales semées aux deux dates aucune différence significative n'est apparue, sauf pour la durée du cycle semis-épiaison. Ce caractère a été retiré de l'ensemble des analyses.

Au total, 77 familles F3 sont étudiées auxquelles s'ajoutent 5 répétitions du parent SS404 et 7 du parent ES70-6.

## 2. Résultats

### a) Description générale

L'aspect général des familles F3 est normal, si on excepte trois familles qui ont présenté des plantes déprimées avec un très faible tallage et une taille réduite. Il se peut que ces familles correspondent à des recombinaisons défavorables; elles ne sont toutefois pas issues de génotypes F2 particuliers.

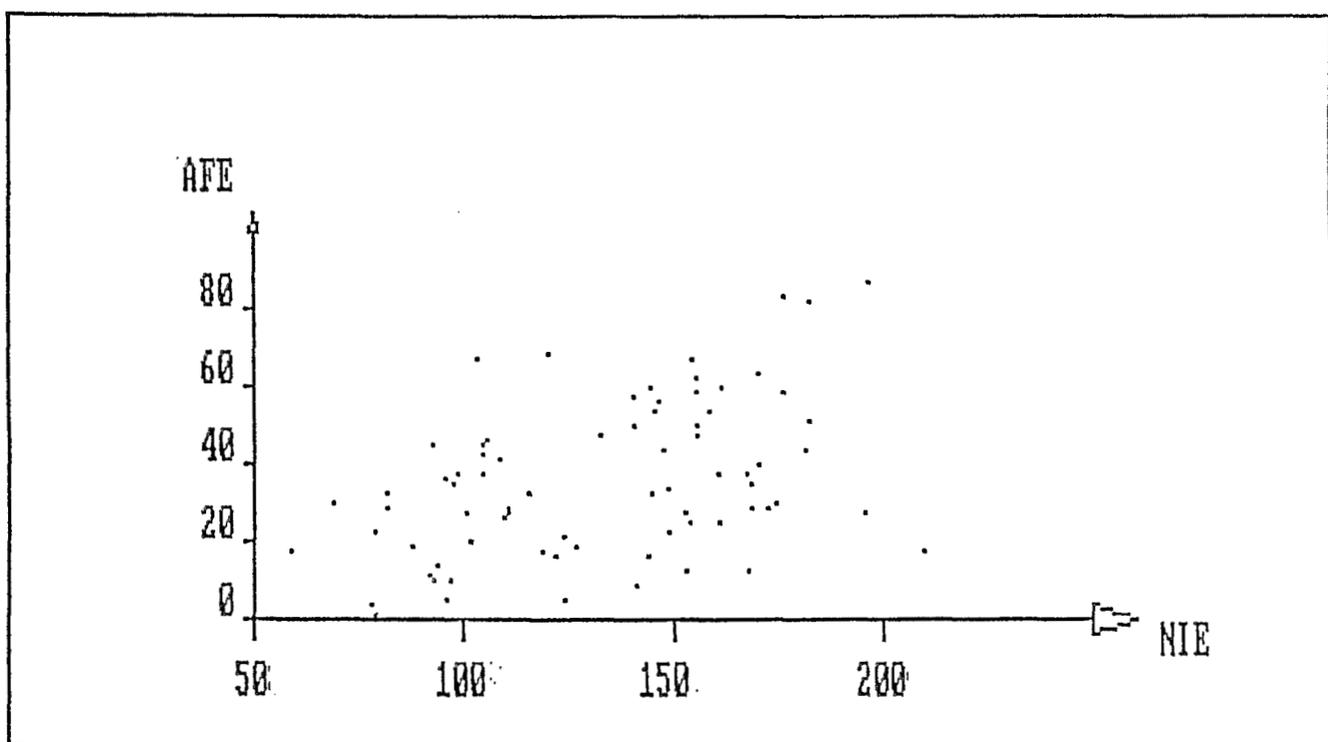
Le Tableau 36 donne les moyennes et écarts-type pour chaque caractère sur les 77 familles F3 analysées.

Une description générale est faite par ACP (Tableau 37), en considérant chaque famille comme un individu en utilisant comme variables les valeurs moyennes pour les caractères mesurés. Les lignées parentales sont placées comme individus supplémentaires.

Les variables actives concernent les dimensions de feuille paniculaire, la hauteur, les caractéristiques paniculaires. La fertilité et production de grains ont été

Figure 22.

Relation entre le nombre d'épillets (NIE) et le pourcentage de fertilité paniculaire (AFE) dans la descendance F3 du croisement ES70-6/SS404.



introduites comme variables supplémentaires afin de ne pas considérer comme variables principales des caractères reflétant directement les barrières reproductives. Les 3 premiers axes sont aisément interprétables (Tableau 37). L'axe 1 (47.4% de la variabilité totale) s'interprète comme un axe de structure paniculaire. L'axe 2 (19.4%) est marqué par la longueur du drapeau tandis que l'axe 3 (16.5%) est un axe de hauteur de plante et de largeur de drapeau. Les lignées parentales ES70-6 et SS404 sont bien séparées sur les deux premiers axes.

Bien que l'échantillonnage des variétés n'ait pas été aléatoire, l'examen de la distribution des familles sur les plans 1-2 et 2-3 montre que la répartition sur le plan est relativement importante. On note cependant sur le premier axe une tendance à une distribution bimodale.

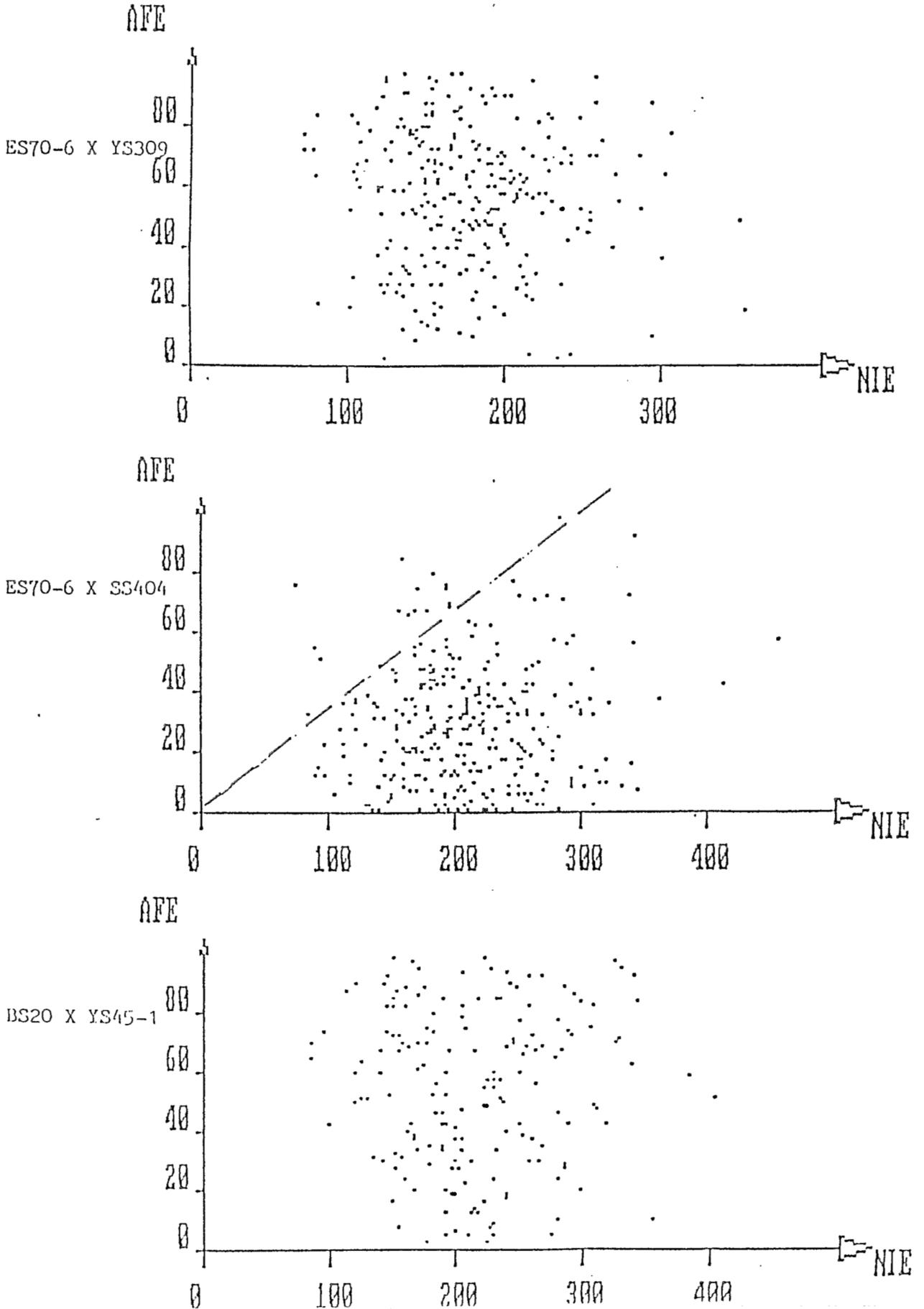
### **b) Fertilité et structure paniculaire**

L'observation des corrélations entre variables supplémentaires et variables factorielles (Tableau 37) apporte une information très intéressante: la corrélation positive entre la fertilité ou la production en grain et les caractéristiques paniculaires. Plus il y a d'épillets, plus la fertilité est grande.

La Figure 22 montre toutefois, que même si cette corrélation est significative, il s'agit en fait plutôt d'une relation triangulaire. La répartition du nuage de point suggère qu'il existe une limitation de la fertilité par le nombre d'épillets par panicule. On trouve ici confirmation d'un résultat également obtenu à la génération F2, présenté en Figure 23. Sur cette figure sont représentées les trois descendance étudiées au chapitre précédent. Il est intéressant de noter que seule la descendance F2 du croisement *japonica/indica* ES70-6/SS404 présente une fertilité apparemment limitée par le nombre d'épillets. Aucune corrélation significative n'est apparue entre ces variables dans les descendance F2 ES70-6/YS309 et BS20/YS45-1.

Figure 23.

Relation entre pourcentage de fertilité paniculaire (AFE) et nombre d'épillets (NIE) dans trois descendance F2.



### c) Interprétation des valeurs moyennes F3 en fonction des génotypes F2 aux locus marqueurs

Considérons à nouveau l'ACP réalisée plus haut. La Figure 24 montre la distribution du point moyen des familles F3 en fonction de la réaction au phénol de la plante mère F2. Cette répartition n'est pas homogène sur ce plan 1-2. En fait, l'hétérogénéité concerne l'axe 1 (structure paniculaire), où il y a une nette polarisation des  $Ph^-$  du côté du parent ES70-6 (de génotype  $Ph^-$ ). On note qu'il y a cependant trois familles  $Ph^-$  qui sont situées à proximité du parent SS404 (de génotype  $Ph^+$ ).

La Figure 25 montre l'impact des recombinaisons entre les deux locus  $Ph$  et  $Acp-1$ . D'un côté, les familles issues de génotypes F2 recombinés  $Acp-1^{-4}/Ph^-$  sont en majorité situées dans le cadran supérieur gauche. De l'autre, celles issues de génotypes (complètement ou partiellement recombinés)  $Acp-1^{+9}/[Ph^+]$  se situent pour une part dans le cadran inférieur droit, et d'autre part dans la partie négative de l'axe 1.

Les génotypes F2 recombinés entre les locus  $Ph$  et  $Acp-1$  engendrent donc des familles présentant les caractéristiques morphologiques moyennes combinées de ES70-6 et SS404 pour la structure paniculaire, la hauteur et les dimensions de la feuille paniculaire.

Cette tendance semble renforcée en choisissant les génotypes qui sont de plus recombinés entre les locus  $Est-2$  et  $Pgi-2$  (Figure 25).

### d) Variation des familles F3

Les tests d'homogénéité des variances montrent des différences significatives entre familles. On considère généralement ces tests comme peu puissants. Nous avons voulu voir s'il était possible d'établir une relation entre cette variation et les génotypes enzymatiques.

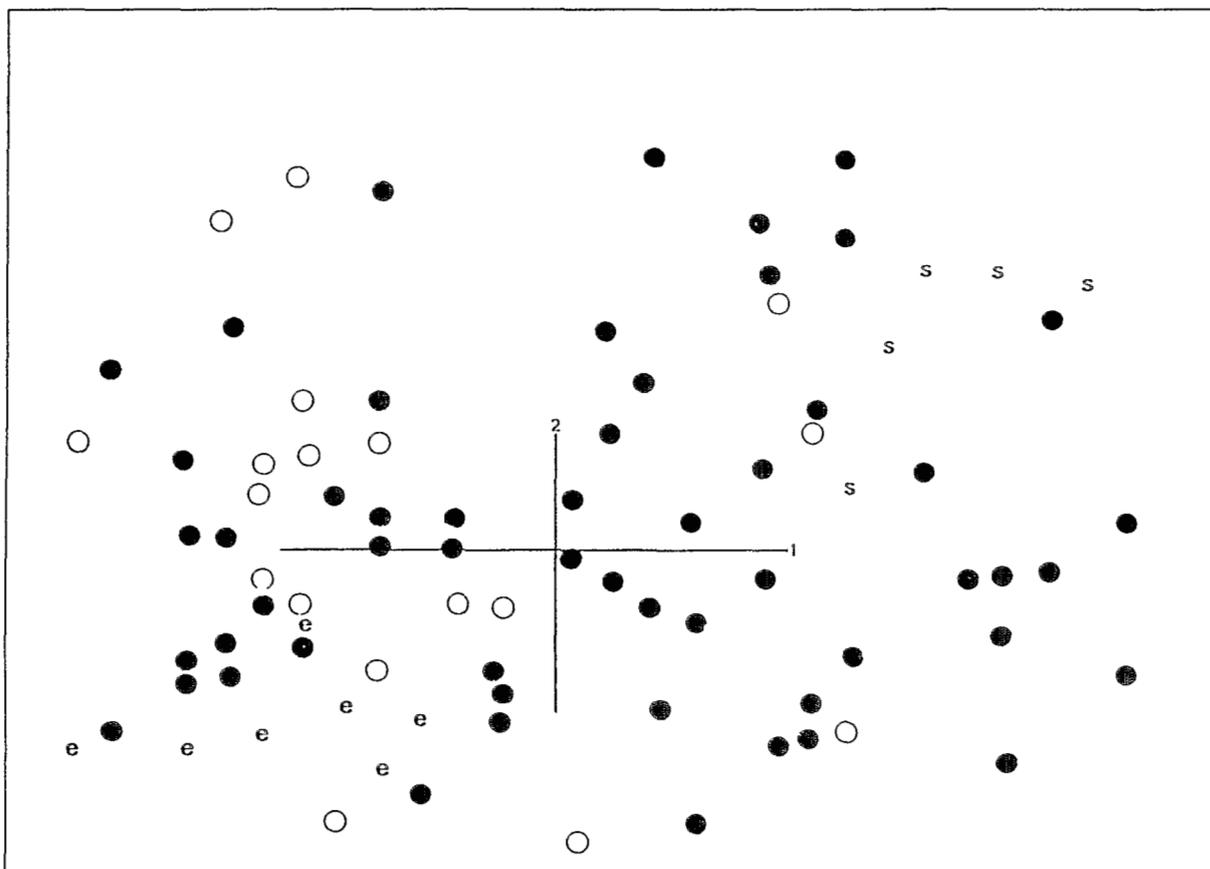
Une analyse en composantes principales a été conduite sur les familles F3 en utilisant comme variables actives les coefficients de variation.

L'axe 1 (40.7%) est défini par les coefficients de variation des variables paniculaires, l'axe 2 (17.0%) par ceux de la hauteur et de la longueur de drapeau, et l'axe 3 (13.9%) par le coefficient de variation de la largeur de la feuille paniculaire.

**Figure 24.**

Plan défini par les deux premiers axes d'une ACP sur la descendance F3 du croisement ES70-6/SS404 en utilisant comme variables les moyennes par famille. Les génotypes parentaux ES70-6 (E) et SS404 (S) sont projetées en individus supplémentaires.

- : Familles F3 issues d'une plante de réaction des grains au phénol positive  
○: Familles F3 issues d'une plante de réaction des grains au phénol négative



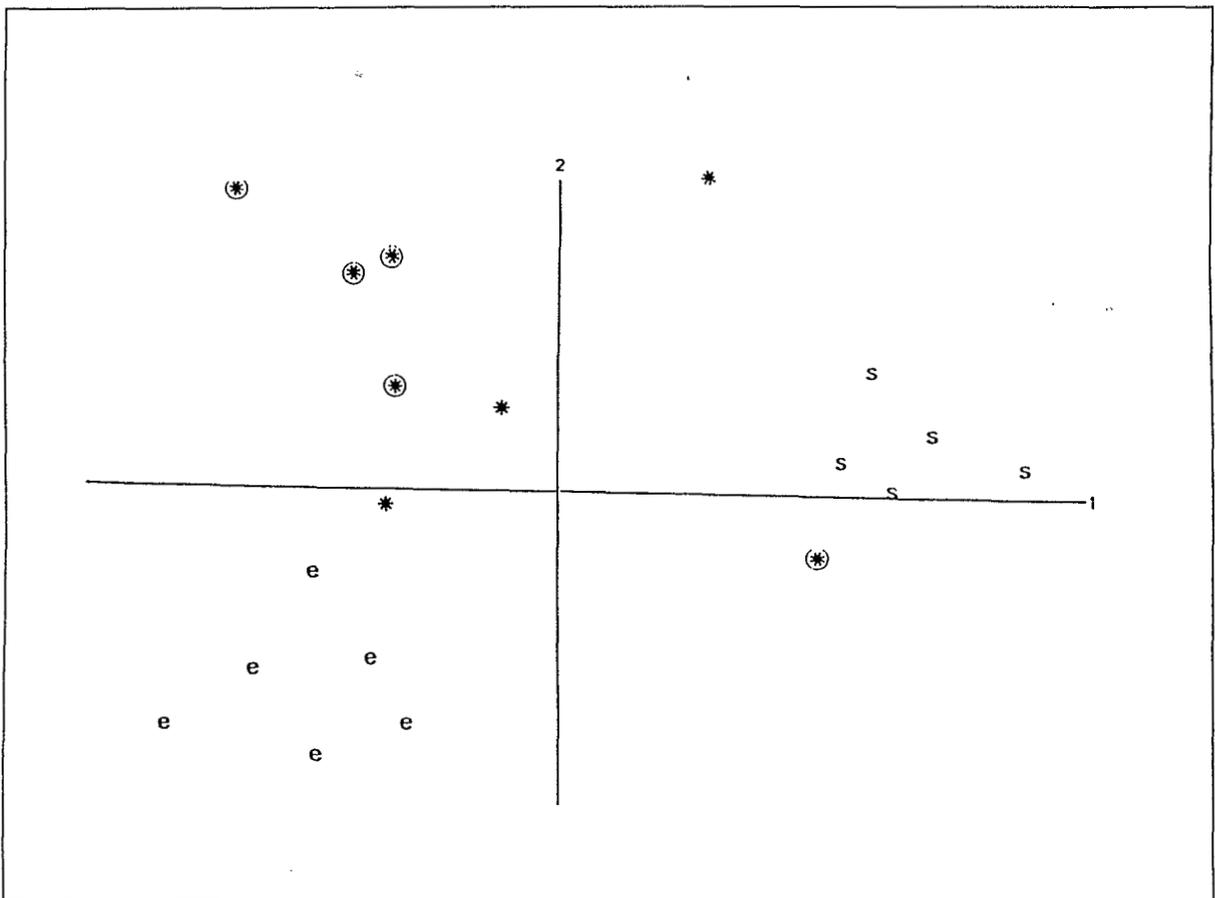
**Figure 25.**

Plan défini par les 2 premiers axes de l'ACP sur la descendance F3 du croisement ES70-6/SS404 (moyennes par famille): projection des familles issues de plantes mères de génotypes particuliers.

Les axes 1 et 2 représentent respectivement 40.7% et 17% de la variabilité.

Les lignées parentales témoins (e: ES70-6, s: SS404) sont projetées en individus supplémentaires

- \* : familles issues d'individus F2 homozygotes recombines entre les locus *Ph* et *Acp-1*
- : familles issues d'individus F2 recombines entre les locus *Pgi-2* et *Est-2*

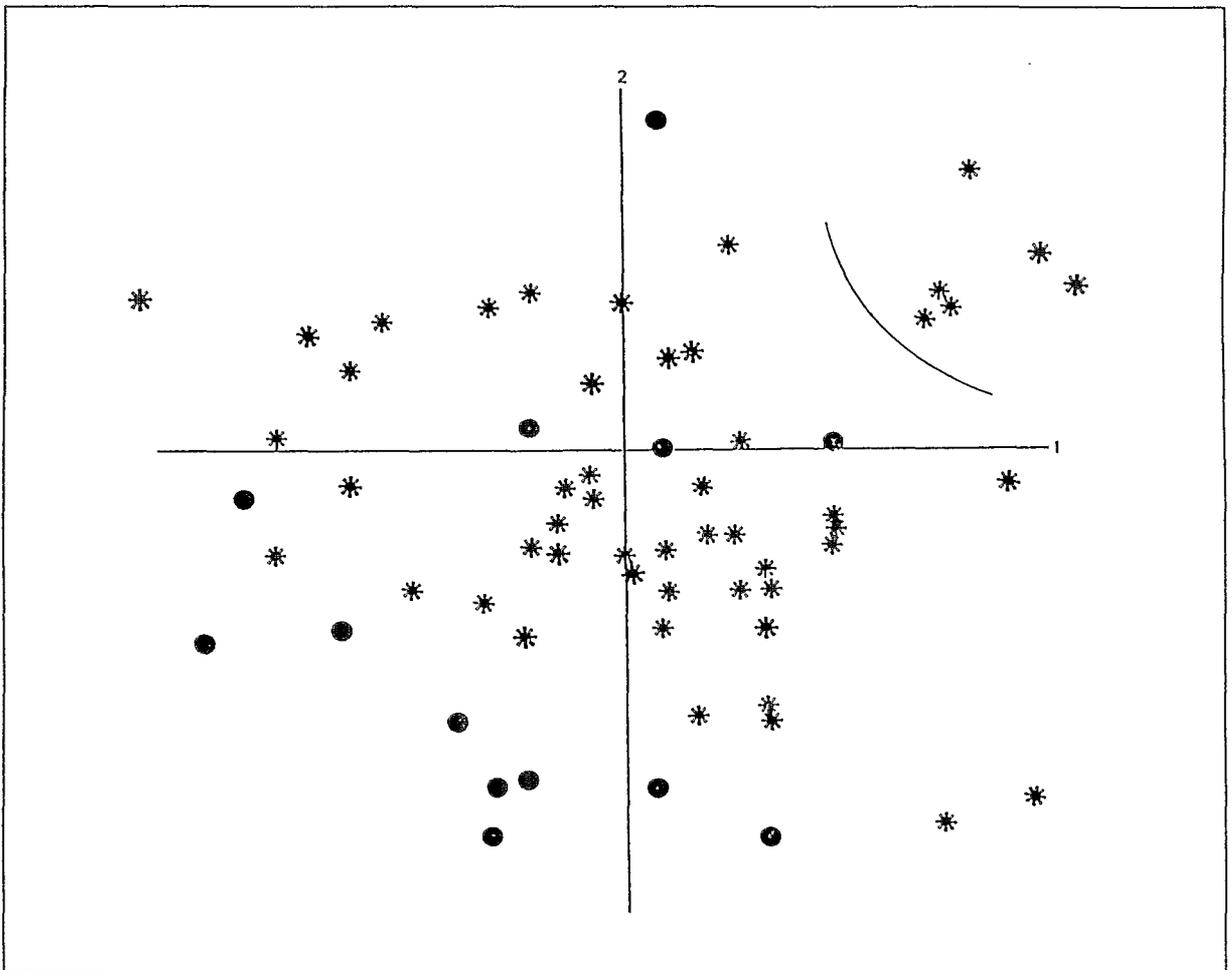


**Figure 26.**

Plan défini par les deux premiers axes l'ACP sur la descendance F3 du croisement ES70-6/SS40 en utilisant les coefficients de variation par famille.

● : Familles F3 issues d'individus F2 possédant les combinaisons parentales pour les locus *Ph* et *Acp-1*

\* : Familles F3 issues d'individus F2 recombinés pour les locus *Ph* et *Acp-1*



Alors que les témoins parentaux *japonica* ES70-6 se situent plutôt dans les valeurs inférieures des coefficients de variation, les témoins parentaux *indica* SS404 se répartissent assez largement sur le nuage.

Au vu du plan défini par les 2 premiers axes de cette ACP (Figure 26), on constate que la répartition est grossièrement basée sur un noyau légèrement excentré avec étalement d'un nuage de plus en plus diffus vers la périphérie. Cependant quelques familles sont isolées dans le cadran supérieur droit correspondant aux plus fortes valeurs des coefficients de variation. Si on examine l'axe 3, ce sont également ces familles que l'on retrouve vers les valeurs élevées.

Une projection des génotypes F2 fait apparaître une large répartition des familles issues de toutes catégories génotypiques. On constate cependant que sur les 7 familles se détachant par leur variation supérieure, 5 sont issus de génotypes recombinés *Acp/Ph*.

## C. RESUME

Au risque de bousculer le plan adopté jusqu'ici, j'ai jugé que la discussion concernant les résultats obtenus dans ce chapitre serait mieux à même d'être menée dans la discussion globale de cette troisième partie. Seul sera fait ici le rappel des principaux résultats.

Le croisement *japonica/indica* ES70-6/SS404 a permis de générer des combinaisons alléliques originales. Aucune de ces combinaisons n'apparaît être contre-sélectionnée du fait de sélection zygotique ou gamétique.

Le segment chromosomique marqué par le locus *Ph* de la réaction au phénol apparaît particulièrement impliqué dans la structuration de la variation dans la descendance F2.

Les familles issues de génotypes F2 recombinés entre les locus *Ph* et *Acp-1* sont celles qui présentent la variation la plus élevée.

La fertilité des plantes en F2 et F3 est limitée par la structure paniculaire.

**Tableau 38.**

Rappel des résultats de ségrégations obtenus dans les descendances de rétrocroisement interspécifiques.

NS: ségrégation normale, G: excès de l'allèle issu du parent *O. glaberrima*,

S: excès de l'allèle issu du parent *O. sativa*, -: non testé

Locus	Rétrocroisement			
	<u>//SS404</u>	<u>//ES70-6</u>	<u>//YS309</u>	<u>//YS45-1</u>
<i>Cat-1</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Est-1</i>	-	ns	-	ns
<i>Est-2</i>	G	G	-	-
<i>Est-8</i>	ns	S	ns	ns
<i>Pgi-1</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Sdh-1</i>	ns	ns	G	G
<i>C</i>	G	G	-	G

## **Chapitre XII.**

# **VARIABILITE DE DESCENDANCES DE RETROCROISEMENTS INTERSPECIFIQUES**

Nous reprenons ici le volet interspécifique de notre étude. L'étude des ségrégations isozymiques, synthétisée dans le Tableau 38, a fourni de premières indications sur les obstacles à la recombinaison que sont de fait les distorsions de ségrégation dans les croisements entre *O. glaberrima* et *O. sativa* (voir la première partie). Ce chapitre développe les résultats obtenus sur les mêmes descendances de rétrocroisement pour les caractères morphologiques et reproductifs. L'objectif de cette étude est d'apporter des éléments de réponse aux questions: Y-a-t-il recombinaison entre les génomes d'*O. glaberrima* et *O. sativa*? Quelle est l'influence du parent *O. sativa* pollinisateur du rétrocroisement sur la descendance? Les descendances seront ici suivies à deux niveaux supplémentaires: fertilité (pollinique et paniculaire) et caractères quantitatifs. Le protocole expérimental a été décrit dans le chapitre VIII.

Ces résultats font l'objet d'un article soumis à *Euphytica*.

## **A. RESULTATS**

### **1. Caractères agromorphologiques**

#### **a) Description des variétés parentales et des hybrides F1**

Le Tableau 39 présente les caractéristiques des génotypes utilisés en croisement.

Intéressons-nous tout d'abord à la distinction *O. glaberrima*-*O. sativa*. Les seuls caractères qui permettent chacun de discriminer à 100% la variété *O. glaberrima* WO25 des variétés d'*O. sativa* sont la longueur de la ligule et la densité de ramifications secondaires. Le premier est un caractère taxinomique, le second peut être considéré comme tel (Sano et al. 1980, Bougerol et Pham 1989).

Tableau 39.

Moyenne et écart-type des caractères quantitatifs chez les lignées, hybride F1 et descendances de rétrocroisement

Caractère	Parent		Hybride F1			Rétrocroisement				
	WO25	ES70-6	SS404	YS309	YS45-1	WO25/ES70-6	//ES70-6	//SS404	//YS309	YS45-1
T60	9.0 +/- 3.8	6.2 +/- 0.6	8.2 +/- 0.8	11 +/- 1.8	4.8 +/- 0.4	5.7 +/- 1.3	5.2 +/- 1.9	6.7 +/- 3.7	11 +/- 2.9	5.4 +/- 2.2
T90	10.5 +/- 4.1	6.3 +/- 0.1	8.3 +/- 0.8	12.3 +/- 2.9	4.8 +/- 0.4	8.3 +/- 2.1	5.9 +/- 1.5	7.0 +/- 1.9	11.1 +/- 2.9	5.8 +/- 2.2
EPI (jours)	61.0 +/- 4.7	68.3 +/- 1.1	93.5 +/- 3.8	82.0 +/- 3.8	83.3 +/- 1.3	59.1 +/- 3.9	68.5 +/- 4.4	69.1 +/- 7.8	65.4 +/- 5.9	67.5 +/- 5.6
LOD (cm)	31.9 +/- 11.9	44.5 +/- 7.1	54.6 +/- 18.9	69.2 +/- 1.6	37.7 +/- 1.5	33.2 +/- 7.0	34.6 +/- 9.5	39.4 +/- 11.3	31.0 +/- 8.3	35.3 +/- 9.5
LAD (cm)	1.84 +/- 0.19	1.89 +/- 0.11	1.00 +/- 0.07	1.58 +/- 0.48	1.70 +/- 0.12	1.77 +/- 0.49	1.82 +/- 0.21	1.43 +/- 0.17	1.41 +/- 0.21	1.80 +/- 0.24
LOD/LAD	17.0 +/- 4.9	23.5 +/- 3.2	54.0 +/- 16	49 +/- 18	22 +/- 0.7	19 +/- 2.8	19 +/- 3.7	28 +/- 9	22 +/- 4.3	18 +/- 6.9
HAD(cm)	78.3 +/- 16.1	97.5 +/- 9.5	104.5 +/- 13.3	63.8 +/- 5.4	73.3 +/- 6.3	90.2 +/- 6.3	88.0 +/- 9.8	94.4 +/- 14.1	88.8 +/- 9.6	88.3 +/- 13.8
LIGU (cm)	0.26 +/- 0.05	1.76 +/- 0.25	1.98 +/- 0.61	1.78 +/- 0.46	1.35 +/- 0.09	1.17 +/- 0.19	1.36 +/- 0.37	1.57 +/- 0.48	1.37 +/- 0.52	1.10 +/- 0.28
MDIA (cm)	0.83 +/- 0.09	1.07 +/- 0.01	1.05 +/- 0.06	0.85 +/- 0.09	1.33 +/- 0.03	0.89 +/- 0.80	1.00 +/- 0.15	0.91 +/- 0.12	0.84 +/- 0.09	0.96 +/- 0.14
LOP (cm)	22.5 +/- 2.3	26.0 +/- 1.8	18.4 +/- 3.0	21.7 +/- 2.6	21.1 +/- 0.8	24.6 +/- 2.5	25.5 +/- 3.1	25.1 +/- 2.8	27.1 +/- 2.4	23.4 +/- 7.6
RA1	9.13 +/- 1.40	9.16 +/- 0.54	7.30 +/- 1.07	6.58 +/- 0.38	8.98 +/- 1.00	7.74 +/- 0.66	8.61 +/- 1.29	8.00 +/- 1.33	8.21 +/- 0.52	8.46 +/- 1.10
RA2	4.2 +/- 2.2	21.6 +/- 1.5	7.9 +/- 1.1	6.8 +/- 1.9	8.4 +/- 1.6	9.9 +/- 2.6	16 +/- 4.4	11 +/- 5.2	11 +/- 4.5	11 +/- 4.1
NIE	76.4 +/- 12.7	119.1 +/- 8.6	60.5 +/- 5.0	51.9 +/- 6.4	69.9 +/- 10.6	79.1 +/- 10.5	95.9 +/- 21.4	77.2 +/- 21.6	79.5 +/- 15.3	83.0 +/- 13.8
RA2/RA1	0.47 +/- 0.20	2.37 +/- 0.22	1.08 +/- 0.06	1.03 +/- 0.29	0.93 +/- 0.08	1.27 +/- 0.29	1.85 +/- 0.47	1.31 +/- 0.54	1.29 +/- 0.47	1.36 +/- 0.52
RA1/LOP	0.40 +/- 0.03	0.35 +/- 0.03	0.40 +/- 0.06	0.43 +/- 0.04	0.43 +/- 0.04	0.32 +/- 0.03	0.34 +/- 0.04	0.32 +/- 0.05	0.30 +/- 0.02	0.36 +/- 0.05

La variété ES70-6 se caractérise par son cycle court, sa grande taille, sa panicule longue et sa forte densité de ramifications secondaires, ces deux derniers caractères résultant en un nombre de grains par panicule important. SS404 présente un cycle long, une feuille étroite, une haute taille, une panicule assez courte. YS309 possède une panicule peu ramifiée, une feuille longue et un fort tallage. Son port de panicule est particulier car dressé à maturité, à la façon d'*O. glaberrima*. Enfin, YS45-1 présente le tallage réduit et les tiges épaisses des variétés pluviales d'Afrique de l'Ouest. Ce génotype a la plus courte ligule des 4 variétés d'*O. sativa* utilisées dans cette expérience.

L'hybride F1 WO25/ES70-6, parent femelle des 4 descendances, présente dans la plupart des cas des valeurs intermédiaires à celles de ses parents (en particulier pour la longueur de la ligule et la densité de ramifications secondaires), avec parfois une tendance à une forte dominance de WO25. Un hétérosis négatif est observé pour le nombre de ramifications primaires. On note que l'hybride F1 ne présente pas le tallage précoce de WO25. L'"hétérosis" observé pour la précocité est une observation habituelle chez le riz, notamment dans les croisements entre les deux espèces cultivées (Bougerol et Pham 1989, cf Chap. VI).

## b) Descendances

Les caractéristiques moyennes de chaque descendance sont indiquées dans le Tableau 39. Les données de chaque descendance ont été soumises à une analyse en composantes principales, les individus parentaux étant considérés comme individus supplémentaires (n'interviennent pas dans la définition des axes). Les variables de fertilité pollinique, longueur de l'arête et longueur de la ligule ont été utilisées comme variables supplémentaires afin de ne pas introduire dans la définition des axes des caractères trop particuliers à ce type de croisement interspécifique.

L'interprétation des axes est donnée dans le Tableau 40. Compte tenu de la faiblesse des effectifs, l'homogénéité globale des résultats quant à la signification des axes est remarquable. Les deux premiers axes représentent environ 60% de la variabilité globale, et sont définis par les variables de tallage d'une part et les variables paniculaires d'autre part. Ces ensembles de variables participent donc à des axes différents, ce qui peut s'interpréter, compte tenu de l'orthogonalité des axes, par leur indépendance. Il faut nuancer ce résultat pour la variable RA1, que l'on observe associée au tallage dans la descendance //YS45-1. Les autres variables telles les dimensions foliaires, la hauteur de la plante ou la durée du cycle ne sont pas systématiquement associées à l'un ou l'autre de ces 2 groupes de variables. La

Tableau 40.

Description des 4 premiers axes des ACP sur les variables quantitatives de chacune des 4 descendances de rétrocroisement: pourcentage de la variation expliquée, caractères impliqués (corrélation).

	//ES70-6				//SS404				//YS309				//YS45-1			
	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4	Axe 1	Axe 2	Axe 3	Axe 4
	36.1%	24.0%	13.7%	10.8%	33.0%	25.2%	12.0%	10.4%	36.9%	34.3%	12.6%	7.3%	34.1%	23.9%	16.1%	10.1%
<i>Variables actives</i>																
T5	0.84					0.91				-0.81				0.83		
T6	0.96					0.92				-0.78	0.51			0.91		
T9	0.84					0.90				-0.81	0.53			0.83		
EPI	-0.75				-0.70						0.52					
LOD	-0.88				-0.67			-0.51		-0.89				-0.74		
LAD	-0.79							-0.59		0.68		-0.69		-0.74		
LOD/LAD	-0.82				-0.84					0.68						0.66
HAD		0.58						-0.49		-0.86		0.53				
MDIA			0.53			-0.74				-0.78	0.54	0.47				
LOP		0.65	0.53				0.71			-0.96				0.67		0.68
RA1		0.62	0.59			0.74				-0.67				0.77		
RA2		0.86				0.84				-0.94				0.93		
NIE		0.86				0.67				-0.95				0.83		
RA2/RA1		0.58	-0.78			0.70				-0.92				0.88		
RA1/LOP				0.90						-0.64					-0.65	
<i>Variables supplémentaires</i>																
Aristation																
LIGU	-0.83					-0.49				0.54	0.64			-0.68		
%pollen normal										-0.69						
%Pollen vide										0.64						
%pollen intermédiaire										0.66						

longueur de la ligule est négativement corrélée aux axes définis par le tallage et les dimensions foliaires. Les variables de fertilité pollinique n'apparaissent corrélées à des axes que dans la descendance //YS309, où la proportion de pollen fertile est positivement corrélée aux dimensions paniculaires. Aucune corrélation n'est observée entre la longueur de l'arête et d'autres caractères.

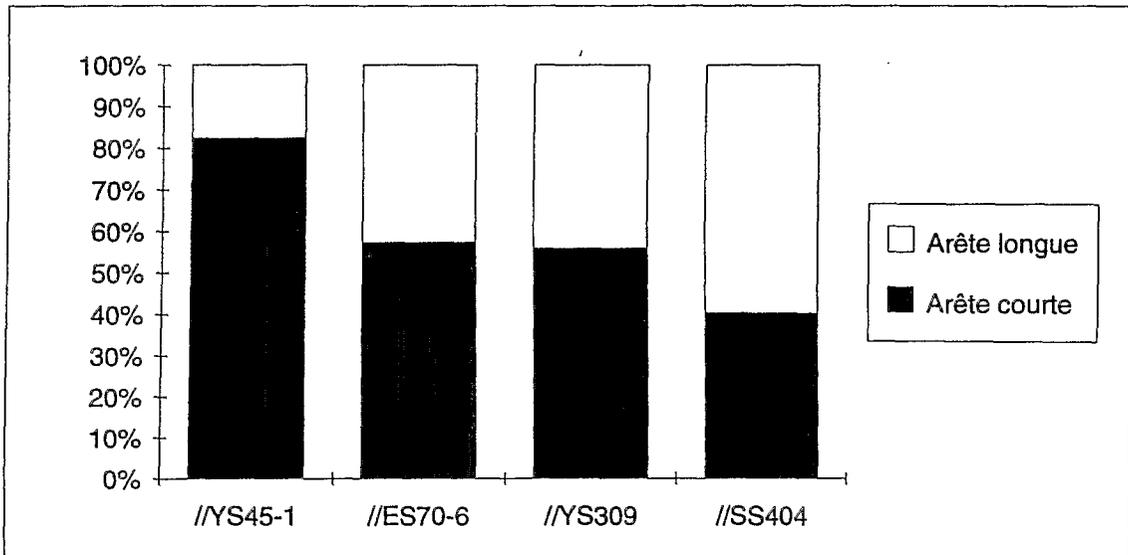
Pour tenter d'évaluer la proportion d'individus récupérant des phénotypes de type *O. glaberrima*, on a utilisé les 2 caractères discriminants "longueur de la ligule" et "densité de ramifications secondaires" pour effectuer une classification ascendante hiérarchique de chacune des descendances, en y incluant les individus parentaux. Dans les quatre cas, le groupe formé par les plantes parentales WO25 forme un ensemble très individualisé et ne comportant aucun autre génotype parental. Pour les quatre descendances //YS309, //ES70-6, //YS45-1 et //SS404, se trouvent respectivement classées dans le groupe de WO25, 2 plantes sur 9, 0 sur 14, 1 sur 17 et 1 sur 34. Il est difficile de comparer ces chiffres entre eux étant donné les faibles effectifs. On peut cependant noter la proportion plus élevée de plantes de type *O. glaberrima* observée dans la descendance //YS309. Le fait le plus intéressant est l'existence même, dans trois descendances sur quatre, de plantes présentant un phénotype proche de *O. glaberrima*. Puisque les hybrides F1 entre *O. sativa* et *O. glaberrima* présentent une longueur de ligule et un indice de ramification secondaire intermédiaire, l'observation de phénotypes proches d'*O. glaberrima* suggère qu'il y a dans la descendance des associations alléliques originales pour les gènes gouvernant ces caractères (recombinaison au sens large)

De même l'étalement des distributions des longueurs d'arête peut-il s'interpréter par des recombinaisons au sens large entre les gènes influant sur ce caractère. On observe pour l'aristation une distribution significativement hétérogène entre les descendances (Figure 27). La descendance //YS45 se détache par son taux plus élevé de plantes pas ou peu aristées tandis qu'à l'inverse la descendance //SS404 présente davantage de plantes aristées.

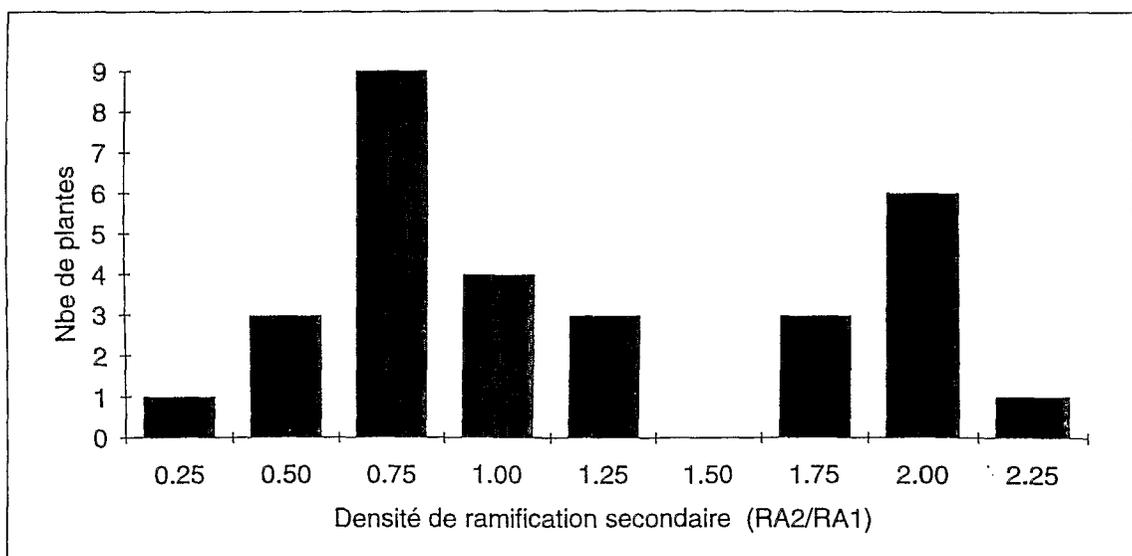
Il faut enfin noter la distribution nettement bimodale de la densité de ramification secondaire observée dans la descendance //SS404 (Figure 28). Cette distribution fait penser à un déterminisme monogénique du caractère, ou du moins à l'existence d'un locus majeur impliqué dans la différence de structure paniculaire entre WO25 et ES70-6 dans le cadre d'un croisement de type (aa x bb) x cc. La mise en évidence de distorsions de ségrégation aux locus marqueurs conduit en effet à évoquer l'hypothèse de l'existence de telles distorsions sur les allèles d'un tel locus et donc à relativiser l'écart de la distribution bimodale à une distribution théorique 1:1.

**Figure 27.**

Fréquences des plantes à arête courte et arête longue dans les descendances de rétrocroisements interspécifiques.

**Figure 28.**

Distribution en fonction de la densité de ramification secondaire dans la descendance du rétrocroisement interspécifique WO25/ES70-6//SS404.



Enfin, on peut imaginer que le maintien dans la descendance d'associations alléliques privilégiées conduise à une telle distribution.

## 2. Fertilités

Le niveau général de fertilité est extrêmement faible puisqu'une seule des 74 plantes observées, issue de la descendance //YS45-1, présente une fertilité paniculaire non nulle (25%).

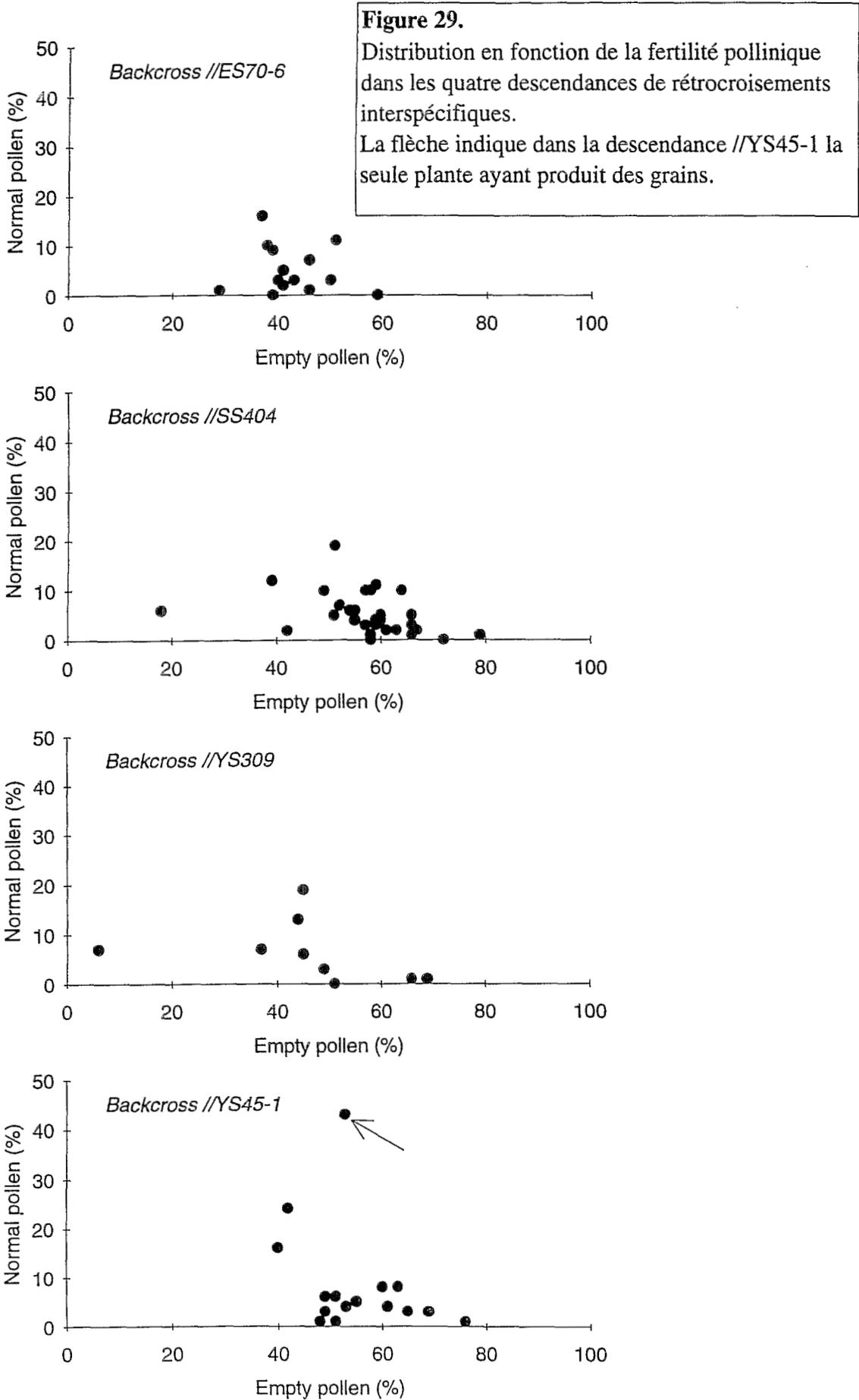
Il est nécessaire, pour affiner l'analyse, de recourir à l'observation du pollen. Les 4 descendances ont un taux moyen de pollen normal très bas (Tableau 41) qui suffit à lui seul à expliquer la quasi-absence de fertilité paniculaire. Ce taux de pollen normal n'est pas significativement corrélé aux taux de pollen vide ( $r=-0.24$ ) et intermédiaire ( $r=-0.28$ ). La corrélation entre ces deux derniers types de pollen est hautement significative ( $r=0.86$ ). On retrouve ici les mêmes relations que lors de l'analyse de fertilités d'hybrides F1 entre *O. sativa* et *O. glaberrima* (Bougerol et Pham 1989, chap. VI). La Figure 29 montre que la distribution des types polliniques est relativement peu étalée à l'intérieur de chaque descendance. La seule plante portant des grains se détache fortement par son taux de pollen fertile (43%) dans la descendance //YS45-1. Les analyses de variance (Tableau 41) montrent des différences significatives entre descendances pour les proportions de pollen vide et intermédiaire. Les plantes des rétrocroisements //ES70-6 et //YS309 ont en moyenne un taux de pollen intermédiaire plus fort (et donc de pollen vide plus faible) que celles des descendances //YS45-1 et //SS404.

**Tableau 41.**

Fertilité pollinique moyenne et fertilité paniculaire maximale observée dans les descendances de rétrocroisement. Les fertilités polliniques ont été comparées entre descendances par analyse de variance. *m*: moyenne, *s*: écart-type

Rétrocroisement	Pollen (%)						Fertilité paniculaire maximale (%)
	Normal		Vide		Intermédiaire		
	m	s	m	s	m	s	
//ES70-6	5	+/- 2	43	+/- 7	52	+/- 8	0
//SS404	5	+/- 4	57	+/- 11	38	+/- 10	0
//YS309	6	+/- 6	46	+/- 17	48	+/- 16	0
//YS45-1	8	+/- 11	55	+/- 9	37	+/- 12	25
Test	***		***		ns (1)		

(1) après transformation racine  
ns, non significatif; \*\*\*,  $P < 0.001$



**a) Relations entre marqueurs génétiques et caractères quantitatifs (descendance //SS404 seulement)***Analyse monolocus*

La seule relation significative trouvée est celle entre le locus *Pgi-1* et la longueur de la ligule ( $p=0.032$ ). Les plantes possédant l'allèle venant de WO25 ont en moyenne une ligule plus courte (14.0 mm) que celle possédant l'allèle ES70-6 (17.2 mm). Ici encore, compte tenu des faibles effectifs et du manque de puissance des tests, il convient de noter, pour une éventuelle confirmation ultérieure, les relations entre la longueur de la ligule et *Est-2* ( $p=0.076$ ), et entre le diamètre des tiges et les locus *Pgi-1* ( $p=0.071$ ) et *Cat-1* ( $p=0.052$ ). Pour lever vérifier que ces relations ne sont pas dues à un effet de longueur du cycle, on introduit la variable Date d'épiaison comme covariable. Les relations entre longueur de la ligule et marqueurs ne sont pas modifiées, tandis que la relation entre le diamètre des tiges et le locus *Pgi-1* devient nettement significative ( $p=0.016$ ) et que la relation avec le locus *Cat-1* n'est plus significative.

*Analyse multilocus*

Une CAH a été effectuée sur 29 individus de la descendance //SS404 en utilisant les variables enzymatiques. Quatre groupes ont été identifiés. En introduisant dans une analyse discriminante l'ensemble des variables quantitatives, on constate qu'on peut parvenir à un pourcentage de plantes bien classées de 62% avec pour seules variables discriminantes la longueur de la ligule et l'indice de ramification secondaire. Il est intéressant de constater que ces variables sont celles qui sont impliquées dans la distinction *O. sativa/O. glaberrima*. Le Tableau 42 montre que 2 classes présentent au moins une des caractéristiques du parent *O. glaberrima* WO25: ligule courte pour la classe 3, qui correspond aux sept individus dont on a vu plus haut qu'ils formaient une structure allélique particulièrement conservée dans la descendance, et faible ramification secondaire pour la classe 4. Cette dernière observation conduit à revenir sur l'interprétation que nous avons faite de la distribution bimodale de l'indice de ramification secondaire et à privilégier l'hypothèse du maintien d'associations alléliques privilégiées.

**Tableau 42.**

Descendance //SS404: moyennes des caractères longueur de la ligule (Ligu) et indice de ramification secondaire (RA2/RA1) pour chacune des classes identifiées par CAH sur les 5 variables enzymatiques.

Classe	1	2	3	4
Nbe plantes	11	6	7	5
Ligu (mm)	16.2	14.7	12.8	18.4
RA2/RA1	1.46	1.91	1.39	1.01

## B. DISCUSSION

### a) Fertilités

Les fertilités polliniques ou paniculaires observées dans les 4 descendances se situent dans l'intervalle de valeurs notées à cette génération par Sano et al. (1980), Yabuno (1977) et Bouharmont et al. (1985). Les petits effectifs étudiés ne permettent pas de mettre en évidence une influence du parent *O. sativa* pollinisateur sur la fertilité des descendances. On notera malgré tout la tendance à une fertilité pollinique plus grande de la descendance //YS45-1, qui est de plus la seule où des grains ont pu être récoltés, même si ce n'est que sur une seule plante.

Le seul effet statistiquement significatif du génotype du parent pollinisateur est observé sur les proportions de pollen vide et intermédiaire. Cet effet ne peut être relié à une classification connue, contrairement à l'étude déjà citée d'un ensemble d'hybrides F1 *O. glaberrima/O. sativa* où les hybrides présentant le plus de pollen vide étaient issues de variétés d'*O. sativa* supposées introgressées d'*O. longistaminata* (Bougerol et Pham, 1989). On sera tenté de juger un tel effet génotype relativement anecdotique. Cependant, malgré l'absence d'interprétation de cet effet, il nous paraît vraisemblable qu'il reflète des différences entre génotypes sur les mécanismes de stérilité en jeu.

### b) Variabilité agromorphologique

La première information à tirer des observations au niveau de la variabilité agromorphologique des descendances est que cette variabilité est suffisamment importante pour qu'un minimum de recombinaison au sens large soit intervenu lors de la gamétogénèse femelle chez l'hybride F1 WO25/ES70-6.

Cependant, l'existence, si on effectue des classifications ascendantes hiérarchiques sur les descendances, de groupes relativement marqués tend à faire penser que les distributions observées sont discontinues. Cela pourrait correspondre à une limitation des réassociations alléliques à un certain nombre de situations ou encore à une expression phénotypique moins variable que les situations génotypiques en jeu. La première hypothèse est corroborée par l'observation de combinaisons alléliques préférentielles dans la descendance //SS404. Le fait de trouver dans cette descendance des groupes alléliques aussi marqués pour la longueur de la ligule et l'indice de ramification secondaire montre la conservation de structures parentales particulières. Ceci peut être rapproché des observations de Sano et al. (1980) qui

concluent à la diminution au cours des générations du nombre de plantes avec des gènes recombinés et des caractères intermédiaires.

La mise en évidence d'une apparente indépendance entre les caractères paniculaires et le tallage est intéressante car le tallage est une des qualités qui est reconnue à *O. glaberrima*, alors que la structure paniculaire est sans aucun doute un de ses défauts rédhibitoires. Il apparaît ainsi possible de sélectionner des plantes cumulant le tallage important de type *O. glaberrima* et une structure paniculaire de type *O. sativa*.

Nous n'observons pas de liaison marquée entre caractères morphologiques et reproductifs (M-V linkage) comme il a été décrit par Sano et al. (1980), sauf dans la descendance //YS309. Ces auteurs ont cependant étudié des générations de back-cross plus avancées, où la restauration de la fertilité est suffisamment élevée pour que d'éventuelles relations avec les caractères morphologiques apparaissent.

## Chapitre XV.

### DISCUSSION DE LA TROISIEME PARTIE

#### A. FERTILITE

On observe dans le croisement *japonica/indica*, tant en F2 qu'en F3, une fertilité limitée par la taille de la panicule dans la descendance *japonica/indica* ES70-6/SS404.

Une explication possible est d'ordre mécanique. La quantité de pollen étant plus faible dans une panicule peu fournie, l'épillet d'une telle panicule a moins de chance d'être fécondé par du pollen issu des autres épillets de la panicule que l'épillet d'une panicule plus fournie. A l'appui de cette hypothèse, on peut noter l'apparition dès la F2 du croisement ES70-6/SS404 de panicules présentant une structure spatiale extrêmement éclatée bien que présentant un taux de ramification primaire et secondaire normal.

Ce résultat fournit une explication supplémentaire, outre l'élimination progressive des allèles de stérilité, à l'observation générale de restauration de la fertilité dans les descendance *indica-japonica*. Les plantes fertiles se reproduisent davantage que les plantes peu fertiles, du fait de leur fertilité d'une part, parce qu'elles ont des panicules plus fournies d'autre part.

De plus, non seulement ces plantes vont se reproduire davantage par autofécondation normale, mais elles vont aussi participer davantage au nuage pollinique de la descendance. Les plantes les plus stériles sont celles qui sont *a priori* les plus disponibles pour recevoir de l'allopollen. Les génotypes les plus fertiles vont donc se reproduire également par l'intermédiaire des génotypes les plus stériles. Il y aurait ainsi au cours des premières générations, si on imagine une population F2 située dans un espace qui lui soit propre, une quasi sélection sexuelle ("sexual

sélection", Willson 1979), c'est à dire une sélection basée sur l'accès à la reproduction. Néanmoins, la panicule n'est pas le seul élément à intervenir dans la production totale de pollen, le tallage intervient également puisqu'une plante peut avoir peu de talles et des petites panicules ou beaucoup de talles et de petites panicules.

Ces observations sur la descendance ES70-6/SS404 peuvent être rapprochés des résultats de Sano et al.(1980) qui concluaient à l'existence d'une liaison entre caractères morphologiques et reproductifs (M-V linkage, Grant 1967) dans des descendance de rétrocroisements entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. Contrairement à ce qui était quelque peu attendu, on ne peut émettre la même conclusion sur la première génération de backcross interspécifique que nous avons étudiée. La restauration de la fertilité y est trop faible pour permettre un rapprochement entre fertilité et structure paniculaire, ceci quelque soit les géniteurs *O. sativa* utilisés.

## B. POINTS CHAUDS

La liaison de certains locus marqueurs avec de nombreux caractères agromorphologiques est remarquable dans la mesure où beaucoup d'entre eux ont été utilisés dans la classification d'*O. sativa*. Ainsi, la réaction au phénol (Oka 1958) est le meilleur caractère simple pour retrouver la classification *indica-japonica* basée sur de nombreux caractères morphophysologiques. Ceci pourrait être dû à la liaison de ce locus avec de nombreux QTLs ou avec des QTLs à effet pleiotrope influençant de nombreux caractères quantitatifs. Ceci pourrait également être le cas des locus *Acp-1/2*, utilisés dans la classification des riz asiatiques (Inouye et Hagiwara 1980, Shahi et al. 1980), *Est-1* dont l'allèle nul caractérise les formes tropicales "javanica" de *japonica* (Nakagahra 1978) et les riz pluviaux africains (Ghesquière et Second 1983), *Est-2*, *Pgi-2* impliqués dans la définition de types "ancestraux" (Second 1982) et dans la partition *indica-japonica* tant des variétés africaines (de Kochko 1987) que des variétés asiatiques (Glaszmann 1988). Le marquage de caractères morphologiques qui ont été utilisés lors de classifications variétales, même s'ils ne sont pas complètement discriminants, tels que le tallage (Jacquot et Arnaud 1979), la forme du grain, les dimensions de la feuille paniculaire, la longueur de la panicule, apparaît ainsi intéressant.

De plus, on observe que certains de ces locus sont liés à la fertilité. Que penser de la présence en une même région du génome de systèmes géniques participant à la distinction *indica-japonica* et de locus impliqués dans l'élaboration

des caractères quantitatifs ? Une conséquence de cette situation est sans doute, si les QTLs en question ont un effet relativement important par rapport aux locus participant au même caractère – et on peut le penser puisque l'effet est suffisamment fort pour être détecté – que les barrières reproductives contribuent au maintien d'une identité morphologique des entités qu'elles séparent. Le chromosome 3 apparaît décidément être un point chaud du génome du riz. On y trouve des facteurs de stérilité tant chez *O. sativa* que chez *O. glaberrima* (voir chapitre VIII) et des QTLs de caractères discriminants. Grimanelli (1992) suggère fortement qu'un des locus responsable de l'isolement entre *O. sativa* et *O. longistaminata* y soit également situé. Cette concentration de locus-clés est remarquable.

Enfin, la zone du génome marqué par le locus de la réaction au phénol *Ph* apparaît également être très importante. On a vu que l'on retrouvait en F2 une opposition entre plantes *Ph*<sup>+</sup> et *Ph*<sup>-</sup>. Cette opposition est si nette qu'on peut se demander si cette zone du génome n'est pas la représentante (parce que marquée) d'un ensemble de secteurs chromosomiques dont la cohésion parviendrait à être maintenue malgré la méiose. Causse (1989) a également noté cette tendance du locus *Ph* à représenter un syndrome *indica* ou *japonica*.

L'observation de familles F3 issues d'évènements particuliers de recombinaison avec le locus *Ph* et présentant une variation importante va dans le sens de cette idée. Il conviendrait de vérifier dans les générations ultérieures le devenir de telles familles. S'il existe des complexes de gènes coadaptés autour de locus tels que *Ph* ou *Acp-1*, il est possible que provoquer une recombinaison engendre des évènements défavorables. Nos observations sur la relation structure paniculaire/fertilité pourraient relever de la perturbation de tels complexes.



**QUATRIEME PARTIE**

**Discussion générale**



## **Chapitre XVI.**

# **DISCUSSION GENERALE**

Il a été écrit en Introduction que ce travail se voulait être une contribution à l'évaluation des Ressources Génétiques d'*O. sativa* en Afrique. L'approche employée a été basée sur les hybridations intra et interspécifiques. Elle n'est pas nouvelle, d'autres l'ont appliquée quand il fallait comprendre l'organisation d'un complexe d'espèces. On en trouvera de nombreux exemples dans l'ouvrage regroupant les communications du Colloque "Complexes d'espèces et Ressources génétiques" (cf Dumas 1992). Deux thèmes, séparés dans le mémoire pour plus de clarté, mais se recouvrant parfois, ont été distingués: a) organisation génétique b) marquage génétique et évolution de la variabilité.

Nous avons plus particulièrement discuté dans chacune des parties l'origine des phénomènes observés. Nous allons maintenant tenter de replacer les résultats obtenus dans un contexte plus général et plus prospectif. Bien que d'autres points de vue eussent été possibles, nous avons conservé pour cette discussion l'angle "Ressources génétiques". Ceci tant par fidélité que par esprit pratique, ce thème se prêtant naturellement à un discours sinon consensuel, du moins fédérateur.

### **A. RESSOURCES GENETIQUES ET QTLs**

Si l'on peut encore écrire aujourd'hui que "la paix des esprits n'est pas pleinement acquise entre neutralistes et sélectionnistes" (Pernès 1984), la controverse porte davantage sur les moteurs de l'Evolution, que sur le polymorphisme isozymique proprement dit. Plusieurs auteurs dont David (1988) s'accordent à dire qu'il y a un consensus relativement large pour admettre la neutralité du polymorphisme enzymatique. Vernet (1992) attire cependant l'attention sur quelques cas d'adaptativité des caractères isoenzymatiques. Second (1985) plaide en faveur d'une interprétation neutraliste des données enzymatiques obtenues dans le genre

*Oryza* en relevant que l'interprétation des divergences génétiques observées est plus aisée en termes phylogénétiques qu'en termes de variations environnementales. L'hypothèse neutraliste s'applique de même à la très grande majorité des marqueurs RFLPs. Une fois établies les classifications en utilisant les méthodes de taxinomie numérique, se pose la question de l'utilisation et de la signification biologique de ces classifications. Les QTLs font partie des éléments à intégrer désormais dans cette réflexion (Second et al. 1992).

Pourquoi les QTLs sont-ils arrivés sur le devant de la scène ? De Vienne (1990) évoque, probablement en connaissance de cause, la frustration du biologiste cherchant à connaître les bases de la variation continue. La frustration évoquée est d'autant plus grande qu'à l'heure du génie génétique, il est moins facile d'admettre et de faire admettre que l'amélioration variétale reste pour une grande part soumise à la "loterie mendélienne" (Gallais 1990), même si les progrès de la méthodologie de la sélection permettent d'augmenter les chances de gains. On peut penser, au risque d'une analyse sociologique simpliste, que cette évolution des esprits, bien sûr associée à "l'explosion des marqueurs" (par analogie avec l'expression de Ninio, 1983, sur "l'explosion des séquences"), a favorisé l'émergence de la thématique "recherche de QTLs", devenue aujourd'hui l'objectif de nombreuses équipes de recherche.

Plus la chasse aux QTLs bat son plein, plus les interrogations se font pressantes quant à l'utilité de ceux-ci pour l'améliorateur de plantes. Car bien entendu, la démarche fondamentale "Comment ça marche ?" est présente. Mais se pose aussi la question: "Des QTLs pour quoi faire" ? Partons, pour tenter d'apporter une réponse, du point de vue du généticien des ressources, en supposant que le sélectionneur sait ou saura exploiter les informations acquises sur l'hérédité des caractères quantitatifs. Nous n'évoquerons donc pas les affres de la sélection assistée par marqueurs.

### **1. Evaluation du polymorphisme des QTLs**

Un premier aspect relève d'une extension à l'extrême de la partie "Evaluation". On peut rêver à l'établissement d'une carte d'identité génétique de chaque accession donnant son profil en QTLs. Double rêve, puisqu'il faudrait tout d'abord avoir les moyens d'identifier les allèles des QTLs, puis connaître leurs modes d'actions et d'interactions. La pensée sous-jacente est en effet, sinon de construire un génotype *de novo* à partir de morceaux de chromosomes (aboutissement de la "banque de gènes"), du moins de le modifier plus ou moins profondément en

introduisant des QTLs connus. Cette démarche relève pour l'instant de l'amélioration-des-plantes-fiction car on est encore très loin de la construction d'idéotypes sur commande. Un point de vue souvent exprimé, par exemple par Asins et Carbonell (1987), est qu'il est difficile d'imaginer que les techniques utilisées pour changer des locus particuliers puissent remplacer les associations naturelles de gènes comme source de gènes coadaptés. Cette remarque conduit seulement à rappeler que l'amélioration variétale ne consiste pas seulement en l'introduction d'un allèle particulier, mais que, brassages et rebrassages puis sélection ont justement pour but la création de nouvelles formules coadaptées. "New plants and old problems" écrivait Woolhouse (1987).

Une attitude plus raisonnable vise à une évaluation du polymorphisme des QTLs. Cette démarche serait le prolongement de l'observation du polymorphisme morphologique. Au lieu de considérer un échantillon variable, par exemple, pour son type de panicule, on recherchera une variabilité pour tels QTLs impliqués dans l'élaboration du caractère. On pourra également chercher à maximiser le nombre de QTLs polymorphes mis en jeu lors des hybridations. Une telle utilisation des QTLs nécessiterait l'identification du plus grand nombre possible de QTLs ainsi que de leurs différents états alléliques.

On peut prévoir qu'en utilisant les méthodes actuelles le nombre de QTLs connus devrait rapidement augmenter chez le riz: c'est une question de nombre de descendances étudiées, de marqueurs considérés et également du nombre d'environnements utilisés pour la culture des plantes. Ce dernier point apparaît primordial au vu de résultats comme ceux de Paterson et al. (1991). En étudiant 350 familles F3 issues d'un croisement *Lycopersicon esculentum* X *L.cheesmani*, ces auteurs montrent que pour les 3 caractères suivis (taille du fruit, concentration en sucres solubles et pH), un quart seulement des QTLs détectés est commun aux 3 environnements testés.

L'identification des états alléliques des QTLs pose davantage de problèmes encore. Jusqu'à présent en effet, les recherches ont visé au repérage de QTLs et les comparaisons entre génotypes se sont faites 2 à 2. A notre connaissance, il n'existe pas de QTL identifié strictement sous plus de 2 formes alléliques puisqu'il faudrait étudier les trois croisements A x B, B x C, et A x C. Il est clair que si l'utilisation de testeurs permettrait de réduire le nombre de descendances à étudier au prix d'un certain sacrifice sur la précision du résultat, il paraît difficile de consacrer une telle étude à chaque accession, même présélectionnée.

La voie restant pour évaluer le polymorphisme des QTLs est celle des marqueurs et c'est là que nous retrouvons la question : en quoi une diversité sur les marqueurs apporte-t-elle une information sur le polymorphisme des QTLs ? Le polymorphisme aux locus supposés neutres permet-il de prédire le polymorphisme aux QTLs et donc, peut-on se servir du polymorphisme moléculaire pour prévoir le polymorphisme des caractères soumis à sélection?

On retrouve ici au niveau des ressources génétiques ce que David (1988) qualifie de "dilemme central" de la génétique évolutive: les caractères les plus aisément identifiables et gérables (marqueurs biochimiques et moléculaires) n'offrent en eux-même aucune signification biologique, tandis que les caractères intéressants sont eux difficilement "accessibles" car pour la plupart polygéniques, sensibles aux variations de l'environnement.

A la suite d'une évaluation agronomique, une classification sur ces critères peut regrouper des génotypes présentant des caractéristiques voisines. L'information apportée par des marqueurs neutres peut permettre d'établir des hypothèses sur la diversité sous-jacente: une différenciation génétique laisse supposer une diversité des QTLs mis en jeu, tandis que le cas inverse permet de conduire à la simplification de la collection.

La superposition d'associations alléliques particulières avec des types culturels bien précis peut s'expliquer par un effet d'entraînement ("hitchhiking"): si les locus enzymatiques sont liés à des gènes directement soumis à sélection, ils vont être entraînés lors de la sélection. Par la suite, leur évolution continuera à être "neutre".

Nos résultats indiquent que l'examen des barrières reproductives séparant des ensembles de variétés pourrait être un indicateur de polymorphisme. Nos résultats indiquent ou confirment que les classifications enzymatiques offrent une approche pertinente de la variabilité d'*O. sativa* en terme de barrières reproductives: classification en grands groupes de compatibilité, identification de variétés à comportement particulier.

Cette superposition satisfaisante peut s'expliquer en revenant aux hypothèses sur la domestication d'*O. sativa*. Considérons avec Second (1982) que les sous-espèces *indica* et *japonica* ont été domestiquées indépendamment à partir de populations différenciées d'*O. rufipogon*. La barrière reproductive est à ce moment très vraisemblablement déjà établie puisqu'on considère généralement que

l'établissement des barrières reproductives n'est pas l'évènement fondateur en lui-même, mais plutôt un phénomène annexe contribuant à affirmer la spéciation (Mayr 1970). Le processus de domestication ayant "seulement" pour effet le transfert d'une fraction du pool génique sauvage dans le domaine cultivé, il est alors logique que la divergence génétique (isozymes) reflète également les barrières de stérilité.

## 2. Des QTLs: lesquels?

Parmi les difficultés théoriques et pratiques de la gestion des ressources génétiques, se pose le problème "Quels QTLs conserver ?"

Lefort-Buson et al. (1990) s'interrogent sur l'intérêt du marquage génétique pour la gestion des ressources génétiques en se posant tout d'abord la question de savoir si l'objectif des ressources génétiques est d'assurer le maintien d'un polymorphisme finalisé sur les critères de sélection à court ou moyen terme, ou s'il est d'assurer à long terme la conservation d'un polymorphisme global. Les auteurs ne sont vraisemblablement pas dupes. Poser la question est déjà y répondre: il paraît évident, sans préjuger des moyens à mettre en oeuvre, qu'il faut gérer le court, le moyen et le long terme ! Cette question a probablement pour objectif de suggérer que deux types de gestion sont sans doute à mener. L'intérêt des QTLs pour une gestion à court terme est clair, dans la mesure où les marqueurs concernés ont été bien évidemment étudiés par rapport à des caractères aujourd'hui considérés comme agronomiquement intéressants. Le maintien d'un polymorphisme limité à quelques marqueurs est alors possible. La gestion du long terme pose naturellement le problème de l'ignorance des caractéristiques agronomiques qui seront exigées et donc de la pertinence du choix de marqueurs qui pourrait être fait aujourd'hui. "Global change", "agriculture propre", "biomasse" sont autant d'éléments qui portent en germe de nouvelles contraintes pour l'améliorateur de plantes.

## 4. Choix des caractères à étudier

Que mesure-t-on quand on mesure la hauteur à la feuille paniculaire d'un plant de riz? Est-ce le produit du nombre d'entre-noeuds par leur longueur moyenne? Est-ce le produit d'un temps d'élongation par une vitesse d'élongation? Cet exemple montre que si on peut trouver des QTLs de caractères morphologiques, il est extrêmement difficile d'émettre des hypothèses sur leur action biologique. La recherche des facteurs de base des caractères est appelée à prendre de l'importance. Nous ne discuterons pas ici de l'intérêt de la sélection assistée par marqueurs. Mais il

nous paraît relativement clair qu'une telle sélection doit bénéficier de connaissances sur "ce que marquent les marqueurs".

Un exemple intéressant de non-décomposition d'un caractère complexe, d'intérêt agronomique s'il en est puisqu'il s'agit du rendement, est donné par Brown et al. (1988). Ces auteurs étudient l'utilité de marqueurs enzymatiques pour suivre l'introgression de fragments chromosomiques d'orge sauvage (*Hordeum spontaneum*) dans une variété d'orge cultivée (*Hordeum vulgare*). Ils observent que si l'introgression d'un fragment peut contribuer à l'obtention d'une variété à meilleur rendement, le cumul de 3 fragments individuellement profitables conduit à une baisse du rendement. Ceci conduit ces auteurs à supposer l'existence d'une limite supérieure à la fraction de génome sauvage pouvant être intégrée dans *Hordeum vulgare*. Sans préjuger de la validité de cette conclusion, on peut cependant mettre en cause sa démonstration. Si on admet que le rendement est un caractère complexe, l'additivité des effets positifs des trois fragments était loin d'être obligatoire.

Cette réflexion sur la nature des caractères à analyser s'accompagne naturellement d'une interrogation sur la nature des QTLs ? Gènes de structure, gènes de régulation, séquences non codantes ? On peut évidemment se poser des questions devant un résultat tel celui obtenu par Battacharyya et al. (1990) qui montrent que le fameux caractère "ridé" des pois de Mendel est dû à l'insertion d'un élément mobile dans un gène codant pour une enzyme agissant sur les chaînes d'amidon. Alors que de nombreux indices laissent supposer qu'un gène de régulation était en jeu, il s'agit de fait d'une insertion dans un gène de structure conduisant à une baisse de l'activité de l'enzyme codée. Ceci annonce quelques futures surprises.

On en vient alors à évoquer les possibilités des techniques de biologie moléculaire pour identifier des gènes. Si on prend l'état actuel des connaissances, aucune étude de QTLs n'a dépassé le stade de la cartographie. Aucun QTL n'a encore été isolé, voire séquencé. Leur fonction biologique n'est pas connue. Si l'on connaît pour certains caractères des gènes "candidats" (Helentjaris et al. 1992), ceux-ci ne sont pas encore "lauréats".

Enfin, faut-il s'attendre à un nombre important d'allèles de QTLs à gérer ?

Aucun résultat expérimental n'est à notre connaissance disponible. Seules des simulations (Mani et al. 1990) indiquent que le nombre d'allèles pouvant être maintenus dans une population n'est pas très élevé: 2 à 3 pour une population d'environ 1000 à 2000 individus. Ces mêmes auteurs font remarquer qu'à partir d'un

certain nombre de locus participant à l'élaboration d'un caractère, ces locus peuvent être considérés comme neutres même si le caractère lui-même est directement soumis à sélection.

Ce sera évidemment une préoccupation majeure du généticien des ressources de savoir si la diversité d'un caractère polygénique est due à la diversité des combinaisons d'un nombre réduit d'allèles ou à la diversité des allèles eux-mêmes.

### 5. Core Collection

Le concept de "core collection" est aujourd'hui assez largement admis. Davantage sous le poids des nécessités, que celui de l'enthousiasme. A-t-on aujourd'hui les éléments pour établir une core collection d'*O. sativa* susceptible de refléter la diversité génétique des caractères agronomiques?

Il nous semble, au regard de la bibliographie et de nos propres résultats, que l'évaluation du polymorphisme enzymatique est à même de révéler les grandes lignes à coup sûr, les détails parfois, de la diversité d'*O. sativa*. Certes l'étude du polymorphisme RFLP ne peut qu'affiner cette connaissance. Mais il se peut qu'elle soit superflue pour ce qui est de la constitution de la core collection.

Se baser sur la classification enzymatique en vigueur à l'IRRI (Glaszmann 1989), sur la répartition écotogéographique nous paraît aujourd'hui le moyen le plus sûr d'aller à l'essentiel.

## B. VALORISATION DES RESSOURCES GENETIQUES

Si on compare sa situation à celle du blé ou du maïs, le riz est incontestablement la céréale majeure sur laquelle il y a eu le moins de recherche en méthodologie de la sélection. Comme le relève Khush (1990), la sélection méthodique du riz a commencé très tard et les paysans asiatiques ont dû attendre le milieu des années soixante pour bénéficier de variétés améliorées.

Une des causes de cette absence de recherches réside sans doute en un effet pervers de l'importance de la variabilité disponible, qui a favorisé la réussite de programmes de sélection classique. On peut y voir aussi l'effet "plante de pays en développement", qui fait de l'amélioration variétale un facteur parmi tant d'autres de la progression de la production: "La réalité, malheureusement complexe, est que la

génétique n'est qu'un élément du processus de développement et qu'elle ne peut avoir un effet que si les conditions de son expression sont réunies" écrit de Raymond (1985).

L'essor récent, sous l'impulsion de la Fondation Rockefeller, de recherches sur les biotechnologies appliquées au riz, et sur les marqueurs moléculaires en particulier, a déjà produit un effet non négligeable sur l'approche ressources génétiques telle qu'elle est envisagée à l'IRRI. Plus que jamais, l'approche "banque de gènes" est développée. Il s'agit d'identifier les allèles intéressants dans une variété cultivée ou dans une espèce sauvage (Sitch et Romero 1989), puis de les transférer dans la variété cible en utilisant toutes les ressources du marquage moléculaire. Cette approche très pragmatique et volontariste apparaît tout de même limitée en terme d'exploitation de la variabilité. On peut incidemment s'interroger sur l'efficacité à long terme des résistances monogéniques issues d'espèces sauvages plus ou moins apparentées. On n'a pour l'instant pas d'élément permettant de supposer que ces résistances d'origine sauvage seront plus durables que des résistances d'origine cultivée (Notteghem, comm. pers.)

On est tenté de faire un parallèle entre l'utilisation des QTLs et celle des ressources génétiques. Dans les 2 cas, il y a, à un extrême, tentation de ne voir dans le génome qu'une boîte noire, au fonctionnement inaccessible, à l'utilisation dominée par un aspect opaque des choses. Et à l'autre, risque de fractionnement, de morcellement excessif.

Le risque existe apparemment de tomber dans une approche relativement réductionniste des ressources génétiques. A l'inverse, il est possible d'émettre quelques idées sur ce que pourrait être une utilisation plus large de ces ressources.

### **1. Inter ou Intraspécifique**

Les arguments que nous avons développé dans ce mémoire vont tous dans le sens d'une interprétation interspécifique des croisements distants chez *O. sativa*. Certes, le niveau de séparation des sous-espèces *indica* et *japonica* est bien moindre qu'entre *O. glaberrima* et *O. sativa*. Les différents phénomènes observés se retrouvent avec une ampleur comparable chez une autre espèce cultivée autogame, le millet (*Setaria italica*), lors d'hybridations entre génotypes d'origine chinoise et européenne. Croullebois et al. (1989) y observent ainsi une stérilité F1 variant de 9 à 93%, des distorsions de ségrégation et des faiblesses de plantes en F2.

Néanmoins l'isolement entre variétés *indica* et *japonica* apparaît comparable ou supérieur à celui observé lors d'hybridations interspécifiques dans d'autres genres (*Solanum*, *Triticum*,...).

Dans la présentation de la distinction *indica-japonica* (Chapitre II), nous avons insisté sur le vocabulaire à employer. En génétique comme ailleurs, le langage n'est pas innocent et les choix sémantiques auront des conséquences prévisibles sur les méthodes de sélection employées. En effet, même si on assiste actuellement à la progression de l'idée (en schématisant) "une méthode, des plantes" aux dépens de "une plante, une méthode" (voir Gallais 1990), il n'en reste pas moins que les schémas intellectuels dominants ne sont pas les mêmes selon que l'on parle de croisement intra- ou inter-spécifique. Or le croisement entre sous-espèces (dit "intersubspécifique") se rapproche de ce dernier cas.

Ainsi, le premier croisement choisi par l'équipe du Pr. Tanksley (Cornell University, Etats-Unis) pour faire la carte RFLP du riz fut un croisement *indica* X *javanica*. Ce choix reflétait l'adoption d'un schéma évolutif selon lequel le groupe *javanica* provient d'une domestication ou différenciation du même type que les ensembles *indica* et *japonica*. Il était alors logique d'attendre de ce croisement un polymorphisme du même ordre que celui attendu d'un croisement *indica* x *japonica*, les distorsions de ségrégations en moins. Pourtant, le polymorphisme RFLP se révéla insuffisant pour parvenir à ramener le nombre de groupes de linkage au nombre de chromosomes. En fait, ceci n'est guère étonnant si on se place dans l'hypothèse où les variétés *javanica* résulteraient de l'introggression entre variétés *indica* et *japonica*. On pouvait donc, en considérant un scénario évolutif différent et aujourd'hui plus vraisemblable, *a priori* penser qu'un croisement *indica* X *japonica* aurait apporté une variabilité plus importante. Le problème fut résolu en utilisant une descendance de rétrocroisement *O. sativa*/*O. longistaminata*//*O. sativa* (Causse 1991).

Cette interprétation interspécifique nous conduit à nous interroger sur les causes de ce qu'on peut globalement qualifier d'échec des hybridations larges *indica/japonica*. Les éléments que nous avons recueillis dans la descendance *japonica/indica* sur les problèmes de fertilité liés à la structure paniculaire, sur les problèmes apparents de stabilité des recombinants forcés entre locus clés, sur les déséquilibres de liaisons entre locus indépendants, sur les distorsions de ségrégation nous semblent tous aller dans le même sens.

La recombinaison des génomes *indica* et *japonica* est possible puisque des variétés traditionnelles sont manifestement le fruit d'échanges génétiques, mais ne

peut être obtenue que dans le cadre de schéma de sélection faisant appel à plusieurs niveaux de brassage, et à un suivi des zones soumises à distorsion. Charrier et Second (1992) rapportent plusieurs exemples de réussite de croisements *indica-japonica*.

## 2. Faut-il désespérer d'*O. glaberrima* ?

Le but premier des croisements que nous avons réalisés entre *O. sativa* et *O. glaberrima* était de confronter la diversité de la première espèce à l'originalité de la seconde. Si les croisements intra-*O. sativa* ont montré qu'à une variabilité de l'échantillon correspondait une diversité des situations observées dans les descendance, l'impression première sur les descendance de croisements entre *O. sativa* et *O. glaberrima* est inverse. Se limiter à cette impression, revient à se contenter d'une impression visuelle (l'aspect éclaté et aristé des panicules fait que ces hybrides se ressemblent tous) et d'une déception (quelque soit le parent *O. sativa*, la fertilité en première et seconde génération est dérisoire). La diversité des réponses est apparue plus subtile, se situant au niveau des systèmes de stérilité et de sélection zygotique.

Le niveau d'isolement des 2 espèces cultivées est sans comparaison avec celui des barrières reproductives à l'intérieur d'*O. sativa*. On peut également faire la comparaison avec *O. longistaminata*. Causse (1989) conclut que l'hybridation d'*O. sativa* avec *O. longistaminata* n'induit pas de distorsion particulière de l'hérédité des caractères quantitatifs. C'est aussi là conclusion à laquelle nous sommes parvenus dans le chapitre sur les hybrides F1 entre les deux espèces cultivées. Le même auteur rapporte une fertilité moyenne en rétrocroisement *O. longistaminata/O. sativa/O. sativa* égale à 18%, ce qui situe cette fertilité à un niveau bien supérieur à celui que nous avons observé à la génération équivalente entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. La comparaison de la facilité d'utilisation de l'espèce sauvage *O. longistaminata* et de l'espèce cultivée *O. glaberrima* apparaît donc tourner à l'avantage de l'espèce sauvage.

Faut-il donc désespérer d'*O. glaberrima*? Les éléments de réponse sont multiples, objectifs pour certains, subjectifs pour d'autres.

i) La réponse serait peut-être *oui* sur une plante de moindre importance économique que le riz. Mais les efforts de diversification à accomplir pour *O. sativa* doivent être rapportés aux surfaces cultivées. Les efforts accomplis (Sitch et Romero 1989) pour faire bénéficier *O. sativa* de l'apport d'espèces appartenant à d'autres

groupes génomiques (*O. brachyanta*, *O. eichingeri*, *O. officinalis*, *O. ridleyi*, ...) sont à ce titre significatifs.

ii) La plus grande part de la recherche rizicole a eu lieu en Asie, et ce plus encore dans les esprits que dans les faits: il est symptomatique que dans un article de synthèse, Khush (1991) fasse l'impasse sur toute l'amélioration du riz extra-asiatique. *O. glaberrima* s'est donc souvent trouvée évaluée dans un milieu complètement différent de son milieu d'origine, se trouvant confrontée à des parasites pour lesquels aucune résistance n'avait pu être sélectionnée au cours de sa domestication en Afrique. Il est alors normal que les sélectionneurs asiatiques n'aient attribués que peu de crédit à cette espèce. Ceux-ci n'ont par ailleurs pas l'attachement sentimental que les généticiens africains portent à *O. glaberrima* du fait de ses origines géographiques. Sié (1991) rapporte joliment que des cultivateurs burkinabés appellent *O. glaberrima* le "riz du paysan" par opposition à *O. sativa*, "riz du fonctionnaire".

iii) Il n'est pas certain que le processus de domestication d'*O. glaberrima* soit complètement achevé. Cette espèce n'a pas acquis toutes les caractéristiques d'une céréale parfaitement domestiquée. Elle présente un égrenage parfois important chez certains cultivars, une maturation des épillets non synchrone sur la panicule, une panicule non compacte (peu d'évolution par rapport à *O. breviligulata*). On peut en effet se demander si la domestication d'*O. glaberrima* est terminée, si cette domestication est bloquée à ce stade du fait de la faible variabilité de l'espèce ancêtre *O. breviligulata* et de l'absence d'allèles de type "domestiqué", si, dans l'hypothèse où les formes de type cultivé ne résulteraient pas de l'association d'allèles de type "domestiqué" mais de réarrangements particuliers de certaines zones du génome, ces réarrangements sont possibles lors du passage *O. breviligulata*-*O. glaberrima*. Joly-Ichenhauser (1984) évoque en effet, pour le mil, l'hypothèse que le syndrome de domestication ne soit pas à considérer en termes purement mendéliens, mais plutôt en terme de perte de fonctionnalité globale de la fraction de génome impliquée dans ce syndrome. Voilà encore un domaine où on attend beaucoup des marqueurs moléculaires dans la mesure où on dispose de peu de marqueurs, notamment isozymiques, polymorphes entre *O. glaberrima* et *O. breviligulata*. Un autre genre de la tribu des *Oryzae* pourrait présenter un intérêt dans l'étude du syndrome de domestication: *Zizania*. Le "riz sauvage américain" est en cours de domestication accélérée puisqu'exploité commercialement tout en étant soumis à une sélection visant à éliminer ses caractères sauvages (Maurice 1989).

Aussi les critères d'évaluation d'*O. glaberrima* doivent-ils être adaptés. Des études sur la réponse de cette espèce à la sélection ne seraient pas superflues.

iv) Enfin, un point paradoxalement encourageant est que les observations convergent, tant au niveau morphologique qu'au niveau biochimique ou moléculaire, pour affirmer que la variabilité d'*O. glaberrima* est faible. Il n'apparaît donc pas nécessaire de manipuler un grand nombre de génotypes d'*O. glaberrima* pour exploiter la variabilité disponible. Ceci ne signifie pas qu'il faille négliger l'évaluation de la variabilité d'*O. glaberrima* –les cas de tolérances aux maladies n'ont notamment été relevés que chez quelques accessions–, mais seulement que l'espace de recherche peut être efficacement circonscrit.

### 3. Éléments pour une gestion dynamique des ressources génétiques des riz cultivés

Les expériences en matière de gestion dynamique sont peu nombreuses. On connaît surtout l'expérimentation menée en Californie sur l'orge (Allard 1992), et plus récemment en France sur le blé tendre (Henry et al. 1991, David et al. 1992, David 1992, Pontis 1992). Rappelons brièvement le principe. Un bulk est constitué à partir de plusieurs génotypes. Ce bulk est reconduit d'année en année sous différentes conditions environnementales.

Faut-il partir, dans la composition des populations de départ, d'ensembles génétiquement proches (*japonica* ou *indica*) ou hétérogènes (descendances de croisements distants voire interspécifiques)?

Au vu des difficultés présentées par les croisements éloignés, il nous semble que les deux voies doivent être menées de front. Si on s'en tient à une vision relativement restrictive des ressources génétiques, on pourra multiplier dans des environnements variés des ensembles suffisamment homogènes pour se mettre à l'abri des diverses barrières reproductives. Ce seront donc des ensembles *indica*, *japonica sensu largo*. L'idée d'un pool *O. glaberrima* est *a priori* peu porteuse d'espoir.

Dans une action plus large, et sans doute menée en relation plus étroite avec les sélectionneurs pour valoriser au mieux des expérimentations forcément délicates, on cherchera à réaliser des populations expérimentales issues d'hybridation larges.

Ainsi, devant les difficultés rencontrées dans les croisements *O. sativa/O. glaberrima*, une solution envisageable est la création de populations

résultant d'un brassage entre les 2 espèces cultivées, à dominante *O. sativa*, ayant récupéré un niveau de fertilité acceptable. L'obtention des premières générations devrait se faire de manière traditionnelle. On se retrouverait alors en partie dans la position déjà évoquée, à savoir de ne pas utiliser *O. glaberrima* pour une qualité particulière, mais plutôt comme pool génétique original, de la même façon que cela a pu être envisagé pour *O. longistaminata* (Causse 1989, Causse et Ghesquière 1990). On peut penser que quitte à affronter des difficultés, autant les affronter en même temps et qu'il serait alors judicieux de constituer un pool avec les trois constituants *O. sativa*, *O. glaberrima* et *O. longistaminata*. Néanmoins, les deux dernières espèces sont extrêmement isolées. Il est peut-être plus raisonnable si on envisage un pool à trois composantes d'introduire *O. glaberrima* dans une phase suivant la constitution d'un pool *O. sativa*-*O. longistaminata*. La méthodologie nous semble devoir être la même que pour des populations *indica-japonica*. La gestion devrait être très pointilleuse au cours des premières générations, pour parvenir à un certain niveau de compatibilité entre génotypes et une gestion moins lourde. Les connaissances maintenant acquises sur les écarts à un mode de reproduction idéal entraînés par des distorsions de ségrégations, sélections zygotiques, doivent permettre un pilotage sinon plus facile, du moins plus averti de ces expérimentations.

L'information est encore malheureusement déficiente sur l'influence qu'a pu avoir *O. longistaminata* sur *O. sativa* en Afrique. On sait certes qu'il y a eu des introgressions de la première vers la seconde et que *O. longistaminata* a ainsi contribué à la variabilité d'*O. sativa* (Ghesquière 1988). Il est plus difficile de savoir si ces introgressions ont eu de l'influence sur la structure génétique de l'espèce cultivée. Nos propres observations sont très limitées. La variété présumée introgressée YS309 présente une compatibilité étroite inter-*O. sativa*. Si on considère les variétés BS20 et 2LS102 comme introgressées, on a vu qu'elles montraient le plus fort niveau de stérilité avec *O. glaberrima*. Etant donné le très fort isolement reproductif entre *O. glaberrima* et *O. longistaminata*, on peut supposer que les introgressions d'*O. longistaminata* n'ont pu que renforcer les barrières entre *O. sativa* et *O. glaberrima*. Plus spéculatif encore est l'aspect concernant les éléments transposables. Ghesquière (1988) évoque l'éventualité où des populations à base large demeurerait instables du fait de la fréquence des événements de transposition induits par l'hybridation interspécifique.

Gallais (1989) souligne l'évidence de la chaîne gestion dynamique+sélection récurrente. Si on se réfère à une situation originale comme celle des riz de Madagascar qui correspond *grosso modo* à l'isolement d'un pool initial *indica*-

*japonica*, la possibilité existe de créer des variétés recombinantes intersubspécifiques originales adaptées à des conditions culturales particulières (Ahmadi et al. 1991). Ces auteurs soulignent cependant la rareté des formes isozymiques intermédiaires et l'existence de complexes de gènes coadaptés. S'il ne devait y avoir qu'une application des marqueurs RFLPs, elle serait de nous renseigner sur les zones du génome qui recombinent et celles qui ne recombinent pas. L'approche menée à l'IRRI (Second et al. 1992) sur ce qui ressemble à une super-core collection (600 variétés) donnera une première idée des conséquences des introgressions *indica-japonica*. Une expérimentation de gestion dynamique devrait fournir d'autres exemples. Conjointement à cette étude des recombinaisons, l'application de l'étude des QTLs trouve naturellement sa place. Le suivi de tel marqueur proche de tel QTL permettrait d'approcher la mise en évidence de sélection sur la partie du génome marquée, en donnant des indications sur le type de caractère sur lequel joue la sélection naturelle.

**QUATRIEME PARTIE**

**Epilogue**



## EPILOGUE

Le généticien des ressources tropicaliste a la chance intimidante de travailler dans la mouvance de deux grands enjeux. L'émergence des pays en développement et la gestion de la biosphère.

Et pourtant, quelque soit la vision utopiste que ce généticien puisse avoir de son travail, la recherche en coopération est à beaucoup d'égards l'école du "Je-ne-sais-quoi et du Presque-rien" (pour reprendre une expression de Jankelevitch).

De toute façon, cette école là me paraît de loin préférable à celle du "Je-ne-sais-pas-quoi" et du "Rien-du-tout". Erik Orsenna (1992) le dit autrement, et mieux.

"Voici l'Afrique.

L'Afrique d'aujourd'hui. Celle qui rit, celle qui lutte, celle qui raconte et invente.

Voici l'Afrique des hommes libres, celle qui donne confiance: le salut vient toujours des hommes libres.

L'Afrique n'est plus à la mode. On n'entend plus que "Vive l'Asie" ou "Bravo l'Est", comme s'il ne se passait rien, rien de bien, rien de fort au sud de la Méditerranée.

Tendez l'oreille, ouvrez vos yeux, voici le démenti. Voici la preuve que le continent bouge, craque, proteste.

Sans doute, ce sera long, long et douloureux comme une naissance, mais beau comme elle.

Tout le monde sait que l'espèce humaine vient de là, entre Addis et Lusaka. Eh bien, le berceau du monde recommence à s'agiter.

Du nord au sud, de l'Algérie qui se cherche à Mandela qui pousse la porte, un vent d'ambition se lève. Salut à lui."



**Références bibliographiques**



**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- ABLER, B.S.B., EDWARDS, M.D. and STUBER, C.W. (1991) Isoenzymatic identification of quantitative trait loci in crosses of elite maize inbreds. *Crop Sci* 31:267-274
- AHMADI, N., GLASZMANN, J.C. and RABARY, E. (1991) Traditional highland rices originating from intersubspecific recombination in Madagascar. Second Rice Genetics Symposium, IRRÍ 1990.
- AHMADI, N (1983) Variabilité génétique et hérédité des mécanismes de tolérance à la sécheresse chez le riz *Oryza sativa* L.: I. Développement du système racinaire - II. Sensibilité stomatique aux déficits hydriques. *L'Agron. Trop.* 38:110-122.
- AHMADI, N, BECQUER T., LARROQUE C. et ARNAUD, M. (1988) Variabilité génétique du riz (*Oryza sativa* L.) à Madagascar. *L'Agron. Trop.* 43:209-221.
- AKROMAH, R. (1987) Rice germplasm resources in Ghana. *Plant Genet. Resources Newsl.* 72:41-42.
- ALAM, M.S. (1988) Evaluation of rice cultivars for resistance to *Diopsis longicornis* (diptera: Diopsidae). *J. Econ. Entomol.* 81:934-936.
- ALEXANDER, M.P. (1969) Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technol.* 44:117-122.
- ALLARD, RW (1992) Predictive methods for germplasm identification. in *Plant Breeding in the 1990s* pp.119-146
- ALLARD, R.W. (1988) Genetic changes associated with the evolution of adaptiveness in cultivated plants and their wild progenitors. *J. Hered.* 79:225-238.
- ARRAUDEAU, M. (1975) Réflexion sur le choix de géniteurs et sur certaines voies d'obtention de variétés nouvelles chez le riz (*Oryza sativa* L.). *Agron. Trop.* 1:8-17.
- ASINS, M.J. and CARBONELL, E.A. (1987) Concepts involved in measuring genetic variability and its importance in conservation of plant genetic resources. *Evol. Trends Plants* 1:51-62.
- ATTERE, A.F. and FATOKUN, C.A. (1983) Reaction of *O. glaberrima* accessions to rice yellow mottle virus. *Plant Disease* 67:420-421.
- BATTACHARYYA, M., SMITH, A.M., ELLIS, T.H.N., HEDLEY, C. and MARTIN, C. (1990) The wrinkled-seed character of pea described by Mendel is caused by a transposon-like insertion in a gene encoding starch-branching enzyme. *Cell* 60:115-122.
- BEMIS, W.P. (1959) Selective fertilization in lima beans. *Genetics* 44:555-562.
- BERNHARDT, M.P. (1991) Contribution à la méthodologie de l'introgression chez *Zea mays* L.: apports de la génétique quantitative et des marqueurs isoenzymatiques. *Thèse de Doctorat Université Paris-Sud*

- BEZANÇON, G., BOZZA, J., KOFFI, G. et SECOND, G. (1977) Diversité génétique d'*Oryza glaberrima* et *O. breviligulata* en observation directe et par électrophorèse d'isozymes. In *Réunion sur les espèces africaines de riz (25-26/01)* IRAT-ORSTOM, Paris. pp. 15-46. (En français et en anglais)
- BEZANÇON, G., CAUSSE, M., GHESQUIERE, A., DE KOCHKO, A., PHAM, J.L. et SECOND, G. (1989) Les riz en Afrique: diversité génétique, relations interspécifiques et évolution. *Bull. Soc. bot. Fr., Actual. bot.* 136:251-262.
- BEZANÇON, G., de KOCHKO, A. and GOLI, K. (1984) Cultivated and wild species of rice varieties (*Oryza sativa* L.) collected in Guinea. *Plant Genet. Resources Newsl.* 57:43-46.
- BORGEL, A. et SECOND, G. (1978) Prospections des variétés traditionnelles et des espèces sauvages de riz au Tchad et au Cameroun. rapport de mission du 19 octobre au 23 décembre 1977. *Rapport multigraphié. ORSTOM.* 18p.
- BOUGEROL, B. and PHAM, J.L. (1989) Influence of the *Oryza sativa* genotype on the fertility and quantitative traits of F1 hybrids between the two cultivated rice species *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Genome* 32: 810-815.
- BOUHARMONT, J. (1963) Recherches cytogénétiques sur quelques hybrides interspécifiques d'*Oryza*. *La Cellule* 63:53-132.-132.
- BOUHARMONT, J. (1982) Cytologie et problèmes de stérilité chez les hybrides interspécifiques d'*Oryza* (Graminées). *Bull. Soc. Roy. Belg* 115:143-148.
- BOUHARMONT, J., OLIVIER, M. and DUMONT DE CHASSART, M. (1985) Cytological observations in some hybrids between the rice species *Oryza sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Euphytica*, 34: 75-81.
- BOYET, C. (1985) Organisation du genre *Oryza* (Gramineae) à l'aide de marqueurs micromoléculaires. *Thèse Doctorat 3ème cycle Sci., Univ. Lyon.* 144p.
- BRAR, D.S., de los REYES, B.G., PANAUD, O., CRUZ, A. and KHUSH, G.S. (1991) Genetic mapping in rice using morphological, isozyme and RFLP markers. *Second Rice Genetics Symposium, IRRI 1990.*
- BROWN, A.H.D. (1989) Core collections: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31:818-824
- BROWN, A.H.D., MUNDAY, J. and ORAM, R.N. (1989) Use of isozyme-marked segments from wild barley (*Hordeum spontaneum*) in barley breeding. *Plant Breed.* 100:280-288.
- BURTON, G.W. and WERNER, B.K. (1991) Genetic markers to locate and transfer heterotic chromosome blocks for increased pearl millet yields. *Crop Sci* 31:576-579
- CAMERON, D.R. and MOAV, R. (1957) Inheritance in *Nicotiana tabacum* XXVII. Pollen killer, an alien genetic locus inducing abortion of microspores not carrying it. *Genetics* 42:326-335.
- CAUSSE, M (1991 ) Cartographie du génome du riz. Séminaire INRA Méribel 1991
- CAUSSE, M. (1989) Evolution de la diversité et de l'allogamie dans une population artificielle d'hybrides entre le riz cultivé *Oryza sativa* L. et l'espèce sauvage *O. longistaminata* A. Chev. et Roehr. *Thèse de Doctorat en Sciences, Université Paris-Sud.* 242 p.
- CAUSSE, M. and GHESQUIERE, A. (1991) Experimental use of *O. longistaminata* for rice genetics: changes in the morphological type, fertility and outcrossing rate in an interspecific population. *Second Rice Genetics Symposium, IRRI 1990.*

- CHANG, T.T. (1985) Genetic resources. In *International Rice research: 25 years of partnership*. IRRI 1985.
- CHANG, T.T. (1989) *Version mise à jour en décembre 1989 de Chang (1985)*
- CHANG, T.T. and BARDENAS, E. (1965) The morphology and varietal characteristics of rice plant. *IRRI, Tech. Bull.*, 104 p.
- CHANG, T.T., YONG-BAO PAN, XI-REN CHU and LORESTO, G.C. (1990) Cytogenetical, electrophoretic and root studies of rices under the javanica ecogeographic race. In: *Second International Rice Genetics Symposium*, IRRI 1990
- CHAO, L. (1928) The disturbing effect of glutinous gene in rice on a Mendelian ratio. *Genetics* 13:191-225
- CHARRIER, A. et SECOND, G. (1992) Lignes directrices du programme ORSTOM sur la génétique des riz. Colloque en hommage à Jean Pernès, Paris, janvier 1992. pp.37-46
- CHENG, K.S. (1985) A statistical evaluation of the classification of rice cultivars into *hsien* and *keng* subspecies. *Rice Genet. Newsl.* 2:46-48.
- CHERKAOUI, M. (1989) Analyse de l'organisation génétique de la descendance hybride de croisements entre mils tropicaux et mils adaptés au climat tempéré. Bases génétiques de l'adaptation du mil au climat tempéré. *Thèse de Doctorat. Université Paris VII.*
- CHOWDHURY, M.K.U., SCHAEFER, G.W., SMITH, R.L. and MATHEWS, B.F. (1988) Molecular analysis of organelle DNA of different subspecies of rice and the genomic stability of mtDNA in tissue cultured cells of rice. *Theor. Appl. Genet.* 76: 533-539.
- CHU, Y.E. (1967) Variation in peroxylase isozymes of *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Jpn. J. Genet.* 42:233-244.
- CHU, Y.E. and OKA, H.I. (1970) The genetic basis of crossing barriers between *Oryza perennis* subsp. *barthii* and its related taxa. *Evolution* 24:135-144.
- CHU, Y.E., MORISHIMA, H. and OKA, H.I. (1969) Reproductive barriers distributed in cultivated rice species and their wild relatives. *Jpn. J. Genet.* 44:207-233.
- CLEGG, M.T. (1989) Molecular diversity in plant populations. In *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Eds: A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler, W.S. Weir. Sinauer associates Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts. pp 98-115
- CLEMENT, G. (1987) L'amélioration du riz pluvial par hybridation. Analyse de huit caractères quantitatifs dans l'ensemble *japonica* au sens large; application à la sélection. *Thèse de docteur ingénieur. Institut National Polytechnique de Toulouse.* 161 p. + annexes.
- CLEMENT, G. et POISSON, C. (1986a) Les problèmes de la stérilité dans les croisements *indica* par *japonica* pour l'amélioration du riz (*O.sativa*). I: La recherche de la compatibilité hybride. *L'Agron. Trop.* 41:27-37.
- CLEMENT, G. et POISSON, C. (1986b) Les problèmes de la stérilité dans les croisements *indica* par *japonica* pour l'amélioration du riz (*O.sativa*). II. L'évolution de la stérilité initiale au cours des générations d'autofécondations. *L'Agron. Trop.* 41:37-39.
- COHEN J.I., WILLIAMS J.T., PLUCKNETT, D.L. and SHANDS H. (1991) Ex Situ Conservation of Plant Genetic Resources - Global Development and Environmental Concerns. *Science* 253:866-872

- CORDESSE, F., SECOND, G. and DELSENY, M. (1990) Ribosomal gene spacer length variability in cultivated and wild rice species. *Theor. Appl. Genet.* 79:81-88.
- COURTOIS, B. (1989) La culture *in vitro*, un outil pour l'amélioration du riz. *L'Agron. Trop.* 43:307-316.
- COURTOIS, B. (1991) Etude de la variabilité des descendance de trois croisements entre variétés de riz (*Oryza sativa* L.) fixées par haplodiploïdisation ou par filiation unipare. *Thèse de doctorat, USTL.*
- COYNE, J.A. (1984) Genetic basis of male sterility in hybrids between two closely species of *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:4444-4447.
- CROULLEBOIS, M.L., BARRENECHE, M.T., de CHERISEY, H. and PERNES, J. (1989) Intraspecific differentiation of *Setaria italica* (L.) P.B.: study of abnormalities (weakness, segregation distortion, and partial sterility) observed in F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> generations. *Genome* 32:203-207.
- DALLAS, J.F. (1988) Detection of DNA "fingerprints" of cultivated rice by hybridization with a human minisatellite DNA probe. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6831-6835
- DALLY, A. (1988) *Analyse cladistique de mutations de l'ADN chloroplastique et phylogénie des riz (Section Eu-Oryza du genre Oryza)*. Coll. Etudes et Thèses, ORSTOM, Paris. 153 p.
- DALLY, A. and SECOND, G. (1989) Chloroplast DNA isolation from higher plants: an improved non-aqueous method. *Plant Mol. Biol. Report.* 7:135-143.
- DALLY, A. and SECOND, G. (1990) Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated species of rice (Genus *Oryza*, section *Oryza*). Cladistic-mutation and genetic-distance analysis. *Theor. Appl. Genet.* 80:209-222.
- DARMENCY, H. and PERNES, J. (1987) An inheritance study of domestication in foxtail millet using an interspecific cross. *Plant Breed.* 99:30-33.
- DAUGHERTY, C.H., CREE, A., HAY, J.M. and M.B. THOMPSON (1990) Neglected taxonomy and continuing extinctions of tuatara (*Sphenodon*). *Nature* 347:177-179.
- DAVID, J.L. (1992) Approche méthodologique d'une gestion dynamique des ressources génétiques chez le blé tendre (*Triticum aestivum*) Thèse INA-PG.
- DAVID, J.L., SAVY, Y., TROTTET, M. et PICHON, M. (1992) Méthode de gestion dynamique de la variabilité génétique. Exemple d'un réseau expérimental de populations composites de Blé tendre. In *Colloque Jean Pernes*. Paris, janvier 1992.
- DAVID, J.R. (1988) Génétique et évolution: qu'y-a-t-il de nouveau dans la théorie synthétique? *Génét. Sel. Evol.* 20:267-280
- DE DATTA, S.K. (1981) Principles and practice of rice production. John Wiley & Sons, New-York
- DE, R.N., SEETHARAMAN, R., SINHA, M.K. and BANERJEE, S.P. (1988) Genetic divergence in rice. *Ind. J. Genet. Plant Breed.* 48:189-194.
- DELLEN, W. van (1988) Multigenic selection in *Plantago* and *Drosophila*, two different approaches. In *Population genetics and evolution*. G. de Jong (ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp 173-186.

- DESGREES DU LOU, A. (1988) Contribution à l'étude des relations entre sous-espèces chez le riz cultivé *Oryza sativa* L. . Observation de descendances issues de croisements entre les variétés éloignées 108 et 521. *Rapport de stage. ORSTOM, Adiopodoumé*. 21 p. + annexes.
- DESGREES DU LOU, A., PHAM, J.L., CAUSSE M., DEPRELLE, G. et ZAGBRE, F. (1988) Enquête sur la riziculture traditionnelle dans la région de Sinfra-Gagnoa (Côte d'Ivoire)(7 au 8 juillet 1988). *Rapport ORSTOM Adiopodoumé*. 8p + annexes.
- DIJK, H. van (1984) Genetic variability in *Plantago* species in relation to their ecology. 2. Quantitative characters and allozyme loci. in *P.major. Theor. Appl. Genet.* 68:43-52.
- DILDAY, R.H. (1990) Contribution of ancestral lines in the development of new cultivars of rice. *Crop Sci.* 30:905-911.
- DIRLEWANGER, E. (1991) Recherche de marqueurs moléculaires liés à des gènes de résistance à quatre maladies du pois (*Pisum sativum* L.): fusariose, oidium, anthracnose et mosaïque commune du pois.
- DOEBLEY, J. (1992) Mapping the genes that made maize. *Trends in Genet.* 8:302-307
- DOEBLEY, J., STEC, C., WENDEL, J. and EDWARDS, M. (1990) Genetic and morphological analysis of a maize-teosinte F2 population: implications for the origin of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci, USA* 87:9888-9892
- DUMAS, C. (1992) Pollen, fécondation, et (in)compatibilités sexuelles. in Colloque en hommage à Jean Pernès, Paris, janvier 1992. pp. 281-290
- EDWARDS, M.D., HELENTJARIS, T - WRIGHT, S. and STUBER, C.W. (1992) Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize .4. Analysis based on genome saturation with isozyme and restriction fragment length polymorphism markers. *Theor Appl Genet* 83:765-774
- EDWARDS, M.D., STUBER, C.W. and WENDEL, J.F. (1987) Molecular marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. I. Numbers, distribution, and types of gene action. *Genetics* 116:113-125.
- ENGLE, L.M., RAMIREZ, D.A. and CHANG T.T. (1969) The cytology of sterility in F2, F3, and F4 hybrids of Indica X Japonica crosses of rice (*Oryza sativa* L.). *Cytologia* 34:572-585.
- FEUERSTEIN, U., BROWN, A.H.D. and BURDON, J.J (1990) Linkage of rust resistance genes from wild barley (*Hordeum spontaneum*) with isozyme markers. *Plant Breed.* 104:318-323.
- FLAVELL, R.B. (1982) Genome variation and species divergence. In *Genome evolution*. G.A Dover and R.B. Flavell (Eds). Academic Press
- FRANKEL O.H. and BROWN A.H.D. (1984) Current plant genetic resources - a critical approach. In: *Genetics: new frontiers*. Vol. 4. Oxford & IBH Publishing Co., New Dehli. pp 1-11.
- FRANKEL, O.H. (1984) Genetic perspectives of germplasm conservation. In: *Genetic manipulation: impact on Man and society*. Eds: WK Arber, K Llimensee, WJ Peacock and P. Starlinger. Cambridge University Press, Cambridge pp 161-170
- GADISH, I. and ZAMIR, D.(1987) Differential zygotic abortion in an interspecific *Lycopersicon* cross. *Genome* 29:156-159.
- GALLAIS, A. (1990) *Théorie de la sélection en amélioration des plantes*. Masson.

- GARVEY, T.C. AND HEWITT, J.D. (1992) Use of molecular markers to locate Quantitative Trait Loci linked to high soluble solids content in a hybrid of *Lycopersicon cheesmanii*. *J Amer Soc Hort Sci* 117:497-499
- GEBUREK, Th. and WUEHLISCH, G. von (1989) Linkage analysis of isozyme gene loci in *Picea abies* (L.) Karst. *Heredity* 62:185-191.
- GHESQUIERE A (1991) The utilisation of *Oryza longistaminata* for rice genetics: evidences of rapid genomic changes in interspecific hybridization. Poster présenté au Secondd Rice Genetics Symposium, IRRI 1990.
- GHESQUIERE, A. (1988). Diversité de l'espèce sauvage de riz *Oryza longistaminata* A. Chev. & Roehr et dynamique des flux géniques au sein du groupe *Sativa*. *Thèse Doctorat es science, Univ. Paris Sud* : 228 p.
- GHESQUIERE, A. et MIEZAN, K. (1982) Etude de la structure génétique des variétés traditionnelles de riz en Afrique; *Réunion ORSTOM-IRAT Septembre 1982*.
- GHESQUIERE, A. et SECOND, G. (1983). Polymorphisme enzymatique et évolution d'*Oryza sativa* en Afrique. In *Colloque Electrophorèse et Taxonomie*. Société Zoologique de France. pp.263-272.
- GLASZMANN, J.C. (1986) A varietal classification of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.). In: *Rice genetics*. Proc. Rice Genetics Symposium, IRRI, Los Banos, Philippines. pp.83-90.
- GLASZMANN, J.C. (1987) Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor.Appl.Genet.* 74:21-30.
- GLASZMANN, J.C. (1988) Geographic pattern of variation among Asian native cultivars (*Oryza sativa* L.) based on fifteen isozyme loci. *Genome* 30:782-792.
- GLASZMANN, J.C. and ARRAUDEAU, M. (1986) Rice plant type variation: "Japonica"- "Javanica" relationships. *Rice Genet. Newsl.* 3:41-43.
- GLASZMANN, J.C., BENOIT, H. et ARNAUD, M. (1984). Classification des riz cultivés (*Oryza sativa* L.). Utilisation de la variabilité isoenzymatique. *Agron. Trop.* 39:51-66.
- GLASZMANN, J.C., KAW, R.N. and KHUSH, G.S. (1990) Genetic divergence among cold tolerant rices (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 45:95-104.
- GOUYON, P.H., COUVET, D. et GLIDDON, C. (1988) Conflits nucléocytoplasmique et stérilité mâle. In *Variabilité génétique cytoplasmique et stérilité mâle cytoplasmique*. Ed. INRA, Paris (Les colloques de l'INRA n°45). pp 35-49.
- GRAEF, G.L., FEHR, W.R. and CIANZO, S.R. (1989) Relation of isozyme genotypes to quantitative characters in soybean. *Crop Sci.* 29:683-688.
- GRANT, V. (1967) Linkage between morphology and viability in plant species. *Am. Nat.* 101:125-138.
- GRANT, V. (1975) Genetics of flowering plants. Columbia University Press, New-York.
- GRIMANELLI, D. (1992) Analyse des introgressions et de la recombinaison entre riz sauvage et cultivé (*Oryza sativa* x *O. longistaminata* A. Chev. & Roehr). Mémoire de DEA ORSTOM/INA-PG.
- GUIDERDONI, E. (1991) Gametic selection in anther culture of rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 81:406-412

- GUIDERDONI, E., GLASZMANN, J.C. and COURTOIS, B. (1989) Segregation of 12 isozyme genes among doubled haploid lines derived from a *japonica* X *indica* cross of rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 42:45-53.
- GUSE R.A., COORS J.G., DROLSOM, P.N. and TRACY, W.F. (1988) Isozyme marker loci associated with cold tolerance and maturity in maize. *Theor. Appl. Genet* 76:398-404
- HAMRICK, J.L. and GODT, M.J. (1989) (1989) Allozyme diversity in plant species. In *Plant population genetics, breeding and genetic resources*. Eds: A.H.D. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler, W.S. Weir. Sinauer associates Inc. Publishers Sunderland, Massachusetts.
- HARLAN J.R. and DE WET, J.M.J. (1971) Toward a rational classification of cultivated plants. *Taxon* 20:509-517.
- HARLAN, J.H. (1975) *Crops and Man*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America (eds), 295 p.
- HAVEY, M.J. and MUEHLBAUER, F.J. (1989) Linkages between restriction fragment length, isozymes, and morphological markers in lentil. *Theor. Appl. Genet.* 77:395-401.
- HELENTJARIS, T., CUSHMAN, M.A.F. and WINKLER, R. (1992) Developing a genetic understanding of agronomic traits with complex inheritance. In *Reproductive biology and plant breeding*. Dattée Y., Dumas, C. and Gallais, A. (eds). Springer-Verlag.
- HENRY J.P., PONTIS C., DAVID J. and GOUYON P.H. (1991) An Experiment on Dynamic Conservation of Genetic Resources with Metapopulations. In: *Species Conservation : A Population - Biological Approach* pp.185-198
- HSIEH, S.C. and OKA, H.I. (1958) Cytological studies of sterility in hybrids between distantly related variety of rice, *Oryza sativa* L. *Jpn J. Genet.* 33:73-80.
- HUANG, H. (1988) Japonica and indica differences in large vascular bundles in culm. *Int. Rice Res. Newsl* 13:7
- IKEHASHI H. and ARAKI H. (1984) Varietal screening of compatibility types revealed in F1 fertility of distant crosses in rice. *Japan J Breed* 324:304-313
- IKEHASHI H., ARAKI H. and YANAGIHARA, (1991) Screening and analysis of wide compatibility loci in wide crosses of rice. *Second Rice Genetics Symposium IRRI 1990*
- IKEHASHI, H and ARAKI, H (1986) Genetics of remote crosses of rice. In: IRRI (ed) *Rice Genetics*, IRRI, Manila, pp. 119-130.
- IKEHASHI, H. (1982). Prospects for overcoming barriers in the utilisation of *indica-japonica* crosses in rice breeding. *Oryza* 19:69-77.
- IMUTA, I., KIKUSHI, F., WATANABE, I. and ENDO, Y. (1991) Genetic analysis of heading time by using linkage relationship with isozyme gene (*Pgi-2*) in rice. Poster présenté au *Second International Rice Genetics Symposium*, IRRI 1990. pp 708-709.
- INOUE, J. and HAGIWARA, T. (1980). Classification of floating rice varieties by acid phosphatases and peroxidase zymograms. *Japan. J. Trop. Agric.* 24:159-164.
- IRAT/Haute-Volta (1969) Les variétés de riz du cercle de Banfora. *Agron. Trop.* 24:691-708.

- ISHII et al (1992) Cytoplasmic and nuclear DNA differentiation in cultivated rice species. Poster présenté au Second Rice Genetics Symposium, IRRI 1990. pp. 655-657.
- ISHIKAWA, R., KINOSHITA, T. and MORISHIMA, H. (1987). Trisomic analysis of genes for isozymes: location of *Cat-1*, *Acp-1* and *Pox-2* on chromosomes. *Rice Genet. Newsl.* 4:75-76.
- IWATA, N., NAGAMATSU, T. and OMURA, T. (1964) Abnormal segregation of waxy and apiculus coloration by a gametophyte gene belonging to the first linkage group in rice. *Jpn. J. Breed.* 14:33-39. (in Japanese with English summary)
- IWATA, N., NAGAMATSU, T. and OMURA, T. (1964). Abnormal segregation of waxy and apiculus coloration by a gametophyte gene belonging to the first linkage group in rice. *Jap. J. Breed.* 14:33-39 (in Jap. with Eng. summary).
- JACQUOT, M., CLEMENT, G., GUIDERDONI, E. et PONS, B. (1992) Le riz. in *Amélioration des espèces végétales cultivées*. A. Gallais et H. Bannerot (eds). INRA Editions. pp. 71-88.
- JACQUOT, M. et ARNAUD, M. (1979) Classification numérique de variétés de riz. *Agron. Trop.* 33:157-173.
- JENA, K.K. and KHUSH, G.S. (1990) Introgression of genes from *Oryza officinalis* Well ex Watt to cultivated rice, *O. sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 80:737-745.
- JOHN, V.T. and THOTTAPILLY, G. (1987) A scoring system for rice yellow mottle virus disease (RYMV). *Int. Rice. Res. Newsl.* 12:26.
- JOHN, V.T., THOTTAPILLY, G., NG, Q., ALURI, K. and GIBBONS, J.N. (1985) Varietal reaction to rice yellow mottle virus disease. *FAO Plant Protection Bull.* 33:109-111.
- JOLY-ICHENHAUSER, H. (1984) Hérité du syndrome de domestication chez le mil *Pennisetum typhoides* (Burm) Stapf & Hubb.: Etude comparée de descendances (F2 et rétrocroisements) issues de croisements entre plusieurs géniteurs cultivés et spontanés. *Thèse de 3ème cycle. Université Paris XI.* 121 p.
- KADOWAKI, K., YAZAKI, K., OSUMI, T., HARADA, K., KATSUKA, M. and NAKAGAHRA, M. (1988) Distribution of mitochondrial plasmid-like DNA in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and its relationship with varietal groups. *Theor. Appl. Genet* 76:809-814.
- KAHLER, A.L., and WEHRAHN, C.F. (1986) Associations between quantitative traits and enzyme loci in the F2 population of a maize hybrid. *Theor. Appl. Genet.* 72:15-26.
- KATO, S (1930) On the affinity of the cultivated varieties of rice plants, *Oryza sativa* L. *J. Dept. Agric. Kyushu Imp. Univ.* 2:241-276.
- KATO, S., KOSAKA, S.H., and HARA, S. (1928). On the affinity of rice varieties as shown by the fertility of rice plants *Oryza sativa* L. *J. Dept. Agric. Kyushu Imp. Univ.* 2:241-276.
- KAWASE, M., KISHIMOTO, N., TANAKA, T., YOSHIMURA, A., SAITO, K., SAITO, A., YANO, M., TAKEDA, N., NAGAMINE, T. and NAKAGAHRA, M. (1990) Intraspecific variation and genetic differentiation based on restriction fragment length polymorphisms in Asian cultivars. in *Second Rice Genetics Symposium*, IRRI 1990. pp 467-474.

- KEIM, P., DIERS, B.W., OLSON, T.C. and SHOEMAKER, R.C. (1990) RFLP mapping in soybean: association between marker loci and variation in quantitative traits. *Genetics* 126:735-742.
- KHUSH, G.S. (1990) Rice breeding - accomplishments and challenges. *Plant Breed. Abstracts* 60:462-469.
- KHUSH, G.S., SINGH, R.J., SUR, S.C. and LIBROJO, A.L. (1984). Primary trisomics of rice: Origin, morphology, cytology and use in linkage mapping. *Genetics* 107:141-163.
- KINOSHITA, T. (1984). Gene analysis and linkage map. In *Biology of rice* Tsunoda, S. and Takahashi, N. (eds) . Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, Elsevier, Amsterdam, pp.187-274.
- KJAER, B., HAAHR, V., JENSEN, J. (1991) Associations between 23 quantitative traits and 10 genetic markers in a barley cross. *Plant Breed.* 106:261-274
- KOCHKO A. de, KIEFER MC, CORDESSE F, REDDY AS, and DELSENY M (1991) Distribution and organization of a tandemly repeated 352-bp sequence in the *Oryzae* family. *Theor. Appl. Genet.* 82:57-64
- KOCHKO, A. de (1987) Isozymic variability of traditional rice (*Oryza sativa* L.) in Africa. *Theor. Appl. Genet.* 73:675-682.
- KOCHKO, A. de (1988) A classification of traditional rice varieties (*Oryza sativa* L.) from Africa using isozymic variability. *Evol. Trends Plants* 1:105-110.
- KOCHKO, A. de (1988) Variabilité enzymatique des riz traditionnels malgaches *Oryza sativa* L. *L'Agron. Trop.* 43:203-208.
- KONDO, A. (1963) Chromosome pairing in hybrids of cultivated rice estimated by the form of segregation of characters. *Ikushugaku Saikin no Shimpō (Advances in Breeding)* 4:15-25 (in Japanese)
- KONISHI, T., ABE, K., MATSUURA, S. and YANO, Y. (1990) Distorted segregation of the esterase isozyme genotypes in barley (*Hordeum vulgare* L.) *Jpn. J. Genet.* 65:411-416.
- LANGE, W. and de BOCK, Th.S.M. (1989) The diploidised meiosis of tetraploid *Beta macrocarpa* and its possible application in breeding sugar beet. *Plant Breed.* 103:196-206.
- LE THI, K. (1990) Génétique du gamétophyte mâle du mil (*Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb.): relations entre l'"overlapping" et l'organisation de la variabilité génétique des plantes haploïdes doublées (HD) issues de culture d'anthers. *Thèse de Doctorat. Université Paris-Sud.* 126 pp. + annexes.
- LEFORT-BUSON, M., RODOLPHE, F. et CHARCOSSET, A. (1990) De nouvelles perspectives pour l'analyse génétique des caractères quantitatifs (1ère partie). I. A la recherche des locus importants. *Biofutur* 91:30-37. II. La sélection assistée par marqueurs. *Biofutur* 92:42-47.
- LEVIN, D.A. (1990) The seed bank as a source of genetic novelty. *Am Nat.* 135:563-572.
- LIN, M.S. (1991) Field uniformity of the Japonica rice region of Taiwan as estimated by relative genetic contribution. *Theor Appl Genet* 83:115-118.
- LINSKENS, H.F. (1987) Pollen as a tool of the plant breeder. *Biol. Zent.bl.* 106:3-11.
- LLOYD, D.G. (1984) Gene selection of Mendel's rules. *Heredity* 53:613-624.

- LU, J.J. and CHANG, T.T. (1980) Rice in its temporal and special perspectives. In B.S. LUH (Ed.) *Rice: Production and utilization*, AVI Wesport, Connecticut, p. 10-11.
- MALLIK, S., AGUILAR, A.M. and VERGARA, B.S. (1988a) Panicle characteristics of some Glaberrima cultivars. *Int. Rice Res. Newsl.* 13:5-6.
- MALLIK, S., AGUILAR, A.M. and VERGARA, B.S. (1988b) Rice panicle characteristic. *Int. Rice Res. Newsl.*
- MANI, G.S., CLARKE, B.C., F.R.S., and P.R. SHELTON (1990) A model of quantitative traits under frequency-dependent balancing selection. *Proc. R. Soc. Lond. B* 240, 15-28
- MARTIN, B., NIENHUIS, J., KIN, G. and SCHAEFER, A. (1989) Restriction fragment length polymorphisms associated with water use efficiency in tomato. *Science* 243:1725-1728
- MATHESON, A.C. (1980) Unexpected high frequencies of outcrossed seedlings among offspring from mixtures of self and cross pollen in *Pinus radiata* D. *Don Aust For Res* 10:21-27
- MATSUO, T. (1952) Genecological studies on cultivated rice. *Bull. Natl. Inst. Agr. Sci., Jpn.*, D3:1-111 (Japonais, Anglais)
- MAURICE, A. (1989) Etude du polymorphisme enzymatique et morphophysiologique chez huit populations de *Zizania* sp. *Rapport de DEA. ORSTOM Montpellier-INAPG*. 52p. + annexes.
- MAYNARD-SMITH, J. (1974) *The evolution of sex*. Cambridge University Press.
- MAYR, E. (1970) *Populations, Species and Evolution*. Harvard University Press.
- MCCOUCH, S.R. and TANKSLEY, S.D. (1991) Development and use of restriction fragment length polymorphism in rice breeding and genetics. In GS Khush and GH Toenniessen (eds) *Rice biotechnology*. CAB and IRRI.
- MCCOUCH, S.R., KOCHERT, G., YU, Z.H., WANG, Z.Y., KHUSH, G.S., COFFMAN, W.R. and TANKSLEY, S.D. (1988). Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 76:815-829.
- MELCHINGER, A.E. (1990) Use of molecular markers in breeding for oligogenic disease resistance. *Plant Breed.* 104:1-19.
- MIEZAN, K. and GHESQUIERE, A. (1986) Genetic structure of African traditional rice cultivars. In: *Rice genetics. Proc. Rice Genetics Symposium*, IRRI, Los Banos, Philippines. pp 91-107.
- MIZUSHIMA, U. and KONDO, A. (1959) Fundamental studies on rice breeding through hybridization between Japanese and foreign varieties. I. An anomalous mode of segregation of apiculus anthocyanin pigmentation observed in a hybrid between a Japanese and an Indian variety. *Jpn. J. Breed.* 9:212-218. (in Japanese with English summary)
- MIZUSHIMA, U. and KONDO, A. (1960) Fundamental studies on rice breeding through hybridization between Japanese and foreign varieties. II. Structural difference of chromosomes between a Japanese and an Indian variety proved by anomalous mode of segregation in apiculus anthocyanin pigmentation in their hybrid. *Jpn. J. Breed.* 10:1-9. (in Japanese with English summary)
- MIZUSHIMA, U. and KONDO, A. (1961) Fundamental studies on rice breeding through hybridization between Japanese and foreign varieties. III. Anomalous modes of segregation in apiculus anthocyanin pigmentation in their hybrid. *Jpn. J. Breed.* 11:253-260 (in Japanese with English summary)

- MONTENARIE, M. (1986) Hybridations intraspécifiques chez *Oryza sativa* L.: analyse diallèle de quelques caractères quantitatifs chez le riz. *Rapport de stage, ORSTOM Adiopodoumé*.
- MORINAGA, T. (1964) Cytogenetical investigations on *Oryza* species. In *Rice Genetics and Cytogenetics*. Proceedings of the Symposium on Rice Genetics and Cytogenetics. Los Banos, Philippines, February 4-8, 1963. Elsevier, Amsterdam, pp. 91-103.
- MORINAGA, T. (1968) Origin and geographical distribution of Japanese rice. *JARQ* 3:1-15.
- MORINAGA, T. and KURYAMA (1958) Intermediate type of rice in the subcontinent of India and Java. *Jpn. J. Breed.* 7:253-259.
- MORISHIMA, H. (1969) Differentiation of pathogenic races of *Pyricularia oryzae* into two groups "indica" and "japonica". *SABRAO Newsl.* 1:81-94.
- MORISHIMA, H. and OKA, H.I. (1981) Phylogenetic differentiation of cultivated rice, 22. Numerical evaluation of the Indica-Japonica differentiation. *Jpn. J. Breed* 31:402-413.
- MORISHIMA, H. and OKA, H.I. (1984) Phylogenetic differentiation of cultivated rice, XXII. Numerical evaluation of the Indica-Japonica differentiation. *Japan. J. Breed.* 31:402-413.
- MORISHIMA, H., HINATA, K. and OKA, H.I. (1962) Comparison between two cultivated rice species *Oryza sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Jpn. J. Breed.* 12:153-165.
- NAKAGAHRA, M. (1972) Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice. *Jpn. J. Breed.* 22:232-238.
- NAKAGAHRA, M. (1978) The differentiation, classification and center of diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L.). *Trop. Agric. Res. Series* 11:77-82
- NAKAGAHRA, M., AKIYAMA, T. and HAYASHI, K.I. (1975) Genetic variation and geographic cline of esterase isozymes in native rice varieties. *Jpn. J. Genet.* 50:373-382.
- NAKAGAHRA, M. and HAYASHI, K. 1976. Detection of esterase isozyme loci of *O. sativa* L. *Jap. J. Breed.* (suppl.1):114-115.
- NAKAGAHRA, M., OMURA, T. and IWATA, N. (1972) Gametophyte genes and their loci on the eleventh linkage group of cultivated rice. *Jpn. J. Breed.* 22:305-312.
- NAKAGAHRA, M., OMURA, T. and IWATA, N. (1974) New certation gene on the first linkage group found by inter-subspecific hybridization of cultivated rice. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 18:157-167.
- NAKAGAHRA, M., OMURA, T. and IWATA, N. 1974. New certation gene on the first linkage group found by inter-subspecific hybridization of cultivated rice. *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.* 18:157-167.
- NINIO, J. (1983) L'explosion des séquences: les années folles 1980-1990. *Bioch. Syst. Ecol.* 11:305-313.
- OKA, H.I. (1953) Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. IX- Influence of intervarietal hybrid sterility on segregation ratios in rice. *Japan. J. Breed.* 3:31-39 (en Japon. avec résumé en anglais).

- OKA, H.I. (1956) Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. XIII-Restriction on gene recombination in hybrid populations of rice. *Jap. J. Breed.* 6:185-191.
- OKA, H.I. (1957) Phylogenetic differentiation of cultivated rice, 15. Complementary lethal genes in rice. *Jpn. J. Genet.* 32: 83-87.
- OKA, H.I. (1958) Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Ind. J. Genet. Plant. Breed.* 18:79-89.
- OKA, H.I. (1960) Phylogenetic differentiation of cultivated rice, 19. Variation in competitive ability among rice varieties. *Jpn. J. Breed.* 10:61-68.
- OKA, H.I. (1964) Considerations on the genetic basis of intervarietal sterility in *Oryza sativa*.. In: IRRI (ed) *Rice genetics and cytogenetics*, Elsevier, Amsterdam. pp. 158-174
- OKA, H.I. (1974a) Analysis of genes controlling F1 sterility in rice by the use of isogenic lines. *Genetics* 77:521-534.
- OKA, H.I. (1974b) Experimental studies on the origin of cultivated rice. *Genetics* 78:475-486.
- OKA, H.I. (1978) Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XXI. The sporophytic pollen sterility: its genetic basis and intervarietal relationships as shown by F2 sterility. *Jap. J. Genet.* 53:397-410.
- OKA, H.I. (1983) The *indica-japonica* differentiation of rice cultivars- A review. In: YAP, T.C., GRAHAM, K.M., and SUKAIMI JALANI (eds): *Crop Improvement Research*. Proc. 4th Int. SABRAO Congress, SABRAO, pp.117-128.
- OKA, H.I. (1988) *Origin of cultivated rice*. Developments in crop science, 14. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- OKA, H.I. and DOIDA, Y. (1962) Phylogenetic differentiation of cultivated rice. 20. Analysis of the genetic basis of hybrid breakdown in rice. *Jpn. J. Genet.* 37:24-35.
- OKA, H.I., and TSAI, K.H. (1955) Phylogenetic differentiation of cultivated rice. 10. Dormancy and longevity of rice seed with regard to their variation among varieties. *Jpn. J. Breed.* 5:22-26.
- OKUNO, K. (1985) Complementary recessive genes controlling hybrid breakdown found in a varietal cross of rice. *Rice Genet. Newsl.* 2:52-54
- OKUNO, K. (1986) Geographical distribution of complementary recessive genes controlling hybrid breakdown in rice. *Rice Genet. Newsl.* 3:44-45.
- OMURA, T. (1982) Problems in intersubspecies hybridization in cultivated rice. In: *Japan's role in tropical rice research*. Summary report of a seminar jointly sponsored by the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University, and the International rice Research Institute, Kyushu University, Japan, 27 september 1980, p. 23-24, Los Banos, IRRI.
- OSBORN, T.C., ALEXANDER, D.C. and FOBES, J.F. (1987) Identification of restriction fragment length polymorphisms linked to genes controlling soluble solids content in tomato fruit. *Theor. Appl. Genet.* 73:350-356.
- OTTAVIANO, E., GORLA, M.S., PE, E., and FROVA, C. (1991) Molecular markers (RFLPs and HSPs) for the genetic dissection of thermotolerance in maize. *Theor Appl Genet* 81:81-713

- OTTAVIANO, E. and MULCAHY, D.L. (1986) Gametophytic selection as a factor of crop plant evolution. In *The origin and domestication of cultivated plants* pp 101-120.
- PAI, C. and FU, P.Y. (1977) Genetic analysis for peroxidase and acid phosphatase isozymes in cultivated rice. *Agron. Bull., Nat. Chung Hsing Univ., Taichung*, 2:75-85 (in Chin. with Eng. summary).
- PAI, C. and FU, P.Y. (1979) Genetic studies on isozymes in rice plant: Classification and geographical distribution of cultivated rice through isozyme studies. *J. Agric. Assoc. China. New series* n° 117.
- PAI, C., ENDO, T. and OKA, H.I. (1973) Genic analysis for peroxidase isozymes and their organ specificity in *Oryza perennis* and *O.sativa*. *Can.J.Genet.Cytol.* 15:845-853.
- PAI, C., ENDO, T. and OKA, H.I. (1975) Genic analysis for acid phosphatase isozymes in *Oryza perennis* and *O.sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 17:637-650.
- PATERSON, A.H., DAMON, S.; HEWITT, J.D.; ZAMIR, D., RABINOWITCH, H.D.; TANKSLEY, S.D.; (1991) Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations, and environments. *Genetics* 127:181-197.
- PATERSON, A.H., DE VERNA, J.W., LANINI, B. and TANKSLEY, S.D. (1990) Fine mapping of quantitative trait loci using selected overlapping recombinant chromosomes in an interspecies cross of tomato. *Genetics* 124:735-742.
- PATERSON, A.H., LANDER, E.S., HEWITT, J.D., PETERSON, S. LINCOLN, S.E. and TANKSLEY, S.D. (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian factors, using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature* 335:721-726.
- PEDERSEN, S. (1988) Pollen competition in barley. *Hereditas* 109:75-81.
- PENG, J.Y., GLASZMANN, J.C. and VIRMANI, S.S. (1988) Heterosis and isozyme divergence in indica rice. *Crop Sci.* 28:561-563.
- PERNES, J. (1983) La génétique de la domestication des céréales. *La Recherche*, 14:910-919.
- PERNES, J. (1984) *Gestion des ressources génétiques des plantes*. 2 tomes. ACCT (Ed.) Paris. 517p.
- PERNES, J. (1985) Evolution des plantes cultivées: l'exemple des céréales. *C.R. Acad. Sci. Paris, série générale*, 2:429-447
- PERNES, J. (non daté) Mise au point préliminaire d'un projet de programme sur les riz d'Afrique. *Rapport mult. ORSTOM*
- PFAHLER, P.L. (1967) Fertilization ability of maize pollen grains. II. Pollen genotype, female sporophyte and pollen storage interactions. *Genetics* 57:513-521.
- PHAM, J.L. (1988) Isozyme markers for plant height and spikelet fertility in rice. *Rice Genet. Newsl.* 5:108-109
- PHAM, J.L. (1990) Identification of genetic markers for quantitative traits in rice. *C. R. Acad. Sci. Paris, série III*, 310:477-483.
- PHAM, J.L., GLASZMANN, J.C., SANO, R., BARBIER, P., GHESQUIERE, A. and SECOND, G. (1990) Isozyme markers in rice: genetic analysis and linkage relationships. *Genome* 33:348-359.

- PHAM, J.L. et KOCHKO, A. de (1983) Prospections de variétés traditionnelles de riz dans l'Ouest et le Sud-ouest de la Côte d'Ivoire du 5 au 9 septembre 1983. *Rapport multigr. ORSTOM, Abidjan.*
- PONTIS, C. (1992) Utilisation de marqueurs génétiques pour le suivi de la variabilité de 3 composites de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) menés en gestion dynamique. *Thèse INA-PG.*
- PORTERES, R. (1956) Taxonomie agrobotanique des riz cultivés *Oryza sativa* Linné et *O. glaberrima* Steudel. *J.A.T.B.A.* 3:341-384.
- PORTERES, R. (1966) Les noms des riz en Guinée. *J.A.T.B.A.*
- RANJHAN, S., GLASZMANN, J.C., RAMIREZ, D. and KHUSH, G.S. 1988. Chromosomal location of four isozyme loci by trisomic analysis in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 75:541-545.
- REY HERME, C. (1982) Les relations génétiques entre les formes spontanées et cultivées chez le mil. *Thèse de 3ème cycle. Univ. Paris XI.*
- RICK, C.M. (1963) Differential zygotic lethality in tomato species. *Genetics* 48:1497-1507.
- RICK, C.M. (1966) Abortion of male and female gametes in tomato determined by allelic interactions. *Genetics* 53:85-96.
- ROBERT, N. (1989) Etude d'un gène modificateur des taux de recombinaison chez *Petunia hybrida* et de son incidence sur la variabilité de caractères quantitatifs. *Thèse de Doctorat. Université de Rennes I.*
- ROBERT, T. (1989) Dynamique des flux de gènes entre formes sauvages et cultivées chez le mil (*Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb.). Impact des sélections gamétophytiques. *Thèse de Doctorat. Univ. Paris XI.*
- ROBERTSON, D.S. (1985) A possible technique for isolating genic DNA for quantitative traits in plants. *J. Theor. Biol.* 117:1-10
- SAGE, R.D. and SELANDER, R.K. (1979) Hybridization between species of the *Rana pipiens* complex in central Texas. *Evolution* 33:1069-1088.
- SAKAMOTO, M., TANO, S., KADOWAKI, K., KISHIMOTO, N., YANO, M., and YAMAGUCHI, H. (1991) Genetic analysis of nuclear DNA homologous to small mitochondrial plasmid-like DNAs in cultivated rice. *Second Rice Genetics Symposium, IRRI 1990*
- SANO, R. and MORISHIMA, H. (1992) Indica-japonica differentiation of rice cultivars viewed from variations in key characters and isozymes, with special reference to landraces from the himalayan hilly areas. *Theor Appl Genet* 1992 84:266-274
- SANO, Y. (1983) A new gene controlling sterility in F1 hybrids of two cultivated rice species. Its association with photoperiod sensitivity. *J. Hered* 74:435-439.
- SANO, Y. (1989) The direction of pollen flow between two occurring rice species, *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *Heredity* 63:353-357
- SANO, Y. (1990) The genic nature of gamete eliminator in rice. *Genetics* 125:183-191.
- SANO, Y. and SANO, R. (1990) Variation of the intergenic spacer region of ribosomal DNA in cultivated and wild rice species. *Genome* 33:209-218.
- SANO, Y., CHU, Y.E. and OKA, H.I. (1979) Genetic studies of speciation in cultivated rice. 1. Genic analysis for F1 sterility between *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Jpn. J. Genet* 54: 121-132.

- SANO, Y., CHU, Y.E. and OKA, H.I. (1980) Genetic studies of speciation in cultivated rice. 2. Character variations in backcross derivatives between *O. sativa* and *O. glaberrima*: M-V linkage and key characters. *Jpn. J. Genet* 55: 19-39.
- SANO, Y., KATSUMATA, M. and OKUNO, K. (1986) Genetic studies of speciation in cultivated rice. 5. Inter- and intraspecific differentiation in the *waxy* gene expression of rice. *Euphytica* 35:1-9.
- SANO, Y., SANO, R. and MORISHIMA, H. (1984) Neighbour effects between two occurring rice species, *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. *J. Appl. Ecol.*, 21, 245-254.
- SARR, A. (1987) Analyse génétique de l'organisation reproductive du mil (*Pennisetum typhoides*). Implications pour son amélioration et la gestion des ressources génétiques. Thèse d'Etat. Université Paris XI-Orsay. 182 p.
- SARR, A. et PERNES, J. (1988). Analyses multivariées de descendance de rétrocroisements et mise en évidence des distorsions de ségrégation de caractères quantitatifs chez le mil (*Pennisetum typhoides* (Burm.) Stapf et Hubb.). *Genome* 30:924-929.
- SARR, A., SANDMEIER, M. and PERNES, J. (1988) Gametophytic competition in pearl millet, *Pennisetum typhoides* Stapf et Hubb. *Genome* 30:924-929.
- SATO, Y.I. (1991) How rice differentiated into *indica* and *japonica* ? *Second Rice Genetics Symposium* IRRI 1990. pp.45-54.
- SATO, Y.I. (1991) Variation in spikelet shape of the Indica and Japonica rice cultivars in Asian Origin. *Jpn. J. Breed.* 41:121-134
- SATO, Y.I., FUJIWARA, H. and UDATSU, T. (1990) Morphological Differences in Silica Body Derived from Motor Cell of Indica and Japonica in Rice. *Jpn. J. Breed.* 40:495-504
- SATO, Y.I., ISHIKAWA, R. and MORISHIMA H. (1990) Nonrandom association of genes and characters found in *indica* x *japonica* hybrids of rice. *Heredity* 65:75-79.
- SATO, Y.I., MATSUURA, S. and HAYASHI, K. (1984) The genetic basis of hybrid chlorosis found in a cross between two Japanese native cultivars. *Rice Genet. Newsl.* 1:106-107.
- SAUPHANOR, B. (1985) Some factors of upland rice tolerance to stem-borers in West-Africa. *Insect science and its application* 6:429-434.
- SAX, K. (1923) The association of size differences with seed coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8:552-560.
- SCOLES, G.J. and KIBIRGE-SEBUNYA, I.N. (1983) Preferential abortion of gametes in wheat induced by an *Agropyron* chromosome. *Can. J. Genet. Cytol.* 25:1-6.
- SECOND, G. (1982) Origin of the genetic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp): study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. *Jap. J. Genet.* 57:25-57.
- SECOND, G. (1985a) *Relations évolutives chez le genre Oryza et processus de domestication des riz*. Editions de l'ORSTOM, Collection Etudes et Thèses, Paris.
- SECOND, G. (1985b) Evolutionary relationships in the *Sativa* group of *Oryza* based on isozyme polymorphism. *Genet. Sel. Evol.* 17:89-114.

- SECOND, G. (1990) Molecular markers in rice systematics and the evaluation of genetic resources. In *Rice. Series Biotechnology in agriculture and forestry*, 14. Bajaj Y.P.S. (Ed). Springer Verlag. New-York.
- SECOND, G., GHESQUIERE, A., CAUSSE, M. et PANAUD, O. (1992) Contribution au développement et à l'utilisation des cartes moléculaires en génétique chez le riz. In *Colloque en hommage à Jean Pernès*, Paris, janvier 1992.
- SHAHI, B.B., MORISHIMA, H. and OKA, H.I. (1969). A survey of variations in peroxydase, acide phosphatase and esterase isozymes of wild and cultivated *Oryza* species. *Japan. J. Genet.* 44:303-319.
- SHAHI, B.B., MORISHIMA, H. and OKA, H.I. (1980) *Jpn. J. Trop. Agric.* 159-164.
- SHASTRY, S.V.S. (1964) Chromosome structural differentiation, isolating mechanisms and speciation in *Oryza*. In IRRI (ed) *Rice genetics and cytogenetics*. Elsevier. Amsterdam. pp. 111-117.
- SHENOY, V.V., SESHU, D.V. and SACHAN, J.K.S. (1990) *Shikimate dehydrogenase-1<sup>2</sup>* allozyme as a marker for high seed protein content in rice. *Crop Sci.* 30:937-940.
- SIE, M. (1989) Analyse de la variabilité intraspécifique chez l'espèce de riz cultivé *Oryza sativa*. *Rapport de DEA, Université Nationale de Côte d'Ivoire*.
- SIE, M. (1991) Prospection et évaluation génétique des variétés traditionnelles de riz (*Oryza sativa* L. et *O. glaberrima* Steud). *Thèse Université Nationale de Côte d'Ivoire*. 118 pp. + annexes
- SILUE, D. and NOTTEGHEM, J.L. (1991) Resistance of 99 *Oryza glaberrima* varieties to blast. *Int. Rice Res. Newsl.* 16, 13-14.
- SITCH, L. A. and ROMERO, G. O. (1989) Attempts to overcome prefertilization incompatibility in interspecific and intergeneric crosses involving *O. sativa* L. *Genome*, 33, 321-327.
- SOKAL, R.R. and ROHLF, F.J. (1981) *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*. Ed: W.H. Freeman and Co, San Francisco.
- SOLLER, M. and BECKMANN, J.S. (1987) Cloning quantitative trait loci by insertional mutagenesis. *Theor. Appl. Genet.* 74:369-378.
- STEBBINS (1958) The inviability, weakness and sterility of interspecific hybrids. *Advances in genetics* 9:147-215.
- SUAREZ, J.C., GRAEF, G.L., FEHR, W.R. and CIANZIO, S.R. (1991) Association of Isozyme Genotypes with Agronomic and Seed Composition Traits in Soybean. *Euphytica* 52:137-146
- SZABO, V. (1991) Cartographie de gènes qui différencient maïs et téosinte à l'aide de marqueurs RFLP. *Thèse de Doctorat, Université Paris Sud, Centre d'Orsay*.
- TAILLEBOIS, J. (1987) Une nouvelle méthode de croisement pour le riz. *Agron. Trop.* 42:29-31
- TAKITA, T. (1992) Varietal differences in crack formation in *japonica* and *indica* rice. *Japan. J. Breed* 42:397-402.
- TANKSLEY, S.D., MEDINA-FILHO, H. and RICK, C.M. (1982) Use of naturally-occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity* 49:11-25.
- TANKSLEY, S.D., RICK, C.M. and VALLEJOS, C.E. (1984) Tight linkage between a nuclear male-sterile locus and an enzyme marker in tomato. *Theor. Appl. Genet* 68:109-113.

- TANKSLEY, S.D., AHN, N., CAUSSE, M., COFFMAN, R., FUTTON, T., McCOUCH, S.R., SECOND, G., TAI, T., WANG, Z., WU, K., and YU, Z. (1991) RFLP mapping of the rice genome. *Second International Rice Genetics Symposium*, IRRI, 1990. pp. 435-442
- TERAO, H. and MIDUSIMA, U. (1939) Some considerations on the classification of *Oryza sativa* L. into two subspecies, so-called 'Japonica' and 'Indica'. *Jap. J. Bot.* 10:213-258.
- TROUSLOT, P. et SECOND, G. (1980). Technique d'électrophorèse en gel d'amidon appliquée à l'étude du polymorphisme de 14 enzymes de riz. In *Electrophorèse d'enzymes de riz*. Paris, ORSTOM, 88p. (Travaux et Documents de l'ORSTOM n°120).
- UENO, K., SATO, T. and TAKAHASHI, N. (1990) The *indica-japonica* classification of Asian rice ecotypes and Japanese lowland and upland rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica* 46:161-164.
- VALLEJOS C.E. and CHASE C.D. (1991) Linkage between isozyme markers and a locus affecting seed size in *Phaseolus vulgaris*. *Theor. Appl. Genet.* 81:413-419
- VELASCO-DEMETERIO, E., ANDO, S., RAMIREZ, D.A. and CHANG, T.T. (1965) Cytological and histological studies of sterility in F1 hybrids of twelve *indica-japonica* crosses. *The Phillipine Agricult.* 49:248-259.
- VERCAMBRE, B. (1982) *Diopsis thoracica* West (Dipt. *Diopsidae*), important ravageur du riz en Afrique de l'Ouest: données bio-écologiques et application à la lutte intégrée. *Agron. Trop.* 37:89-98.
- VERNET, P. (1992) Approche écologique des ressources génétiques. In *Colloque en hommage à Jean Pernès*, Paris, janvier 1992. pp.313-326
- VIENNE, D. de (1990) Le déterminisme génétique des caractères quantitatifs. *Medecine/Sciences* 10:XI-XV.
- WAGNER, H. and WRICKE, G. (1991) Genetic control of five isozyme systems in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) *Plant Breed.* 107:124-130
- WANG, Z.Y. and TANKSLEY, S.D. (1989) Restriction fragment length polymorphism in *Oryza sativa* L. *Genome* 32:113-118.
- WANG, Z.Y., SECOND, G. and TANKSLEY S.D. (1992) Polymorphism and phylogenetic relationships among species in the genus *Oryza* as determined by analysis of nuclear RFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 83:565-581.
- WELLER, J.I. (1987) Mapping and analysis of quantitative trait loci in *Lycopersicon* (tomato) with the aid of genetic markers using approximate maximum likelihood methods. *Heredity* 59:413-421.
- WELLER, J.I., SOLLER, M. and BRODY, T. (1988) Linkage analysis of quantitative traits in an interspecific cross of tomato (*Lycopersicon esculentum* x *L. pimpinellifolium*) by means of genetic markers. *Genetics* 118:329-339.
- WENDEL, J.F., EDWARDS, M.D. and STUBER, CW (1987) Evidence for multilocus genetic control of preferential fertilisation in maize. *Heredity* 58:297-301
- WERMAN, S.D., DAVIDSON, E.H. and BRITTEN, R.J. (1990) Rapid evolution in a fraction of the *Drosophila* nuclear genome. *J. Mol. Evol.* 30:281-289.
- WESTPHAL, and WRICKE, (1991) Genetic and linkage analysis of isozyme loci in *Daucus carota* L. *Euphytica* 56:259-267.
- WOOLHOUSE (1987) New plants and old problems. *Annals of Botany* 60:189-198

- WRICKE, G. and WEHLING, P. (1985) Linkage between an incompatibility locus and a peroxidase isozyme locus (Prx7) in rye. *Theor. Appl. Genet.* 71:289-291.
- WU, K.S., GLASZMANN, J.C. and KHUSH, G.S. 1988. Chromosomal location of ten isozyme loci in rice (*Oryza sativa* L.) through trisomic analysis. *Bioch. Genet.* 26:303-320.
- YABUNO, T. (1977) Genetic studies on the interspecific cytoplasm substitution lines of japonica varieties of *O. sativa* L. and *O. glaberrima* Steud. *Euphytica* 26:451-463.
- YANO, M., SAITO, A., KISHIMOTO, N., KAWASE, M., SAITO, K., NAGAMINE, T., KATSUTA, M., NAKAGAHARA, M., KUHARA, S., YOSHIMURA, S., IDETA, O., YOSHIMURA, A. and IWATA, N. (1990) Towards the integration of a restriction fragment length polymorphism map and conventional genetic map of rice, *Oryza sativa* L. *Second Rice Genetics Symposium*, IRRI 1990. pp 459-466.
- YOKOO, M. (1984) Female sterility in an *Indica-Japonica* cross of rice. *Jpn. J. Breed.* 34:219-227
- YOKOO, M. (1986) Female sterility in rice. *Rice Genet. Newsl.* 3:51-53.
- YONEZAWA, K., SATO, Y.I., NOMURA, T. and MORISHIMA, H. (1990) Computer-simulated evaluation of the hybrid weakness gene system as a means of preventing genetic contamination of rice cultivars. *Plant Breed.* 104:241-247.
- ZAMIR, D., TANKSLEY, S.D. and JONES, R.A. (1981) Low temperature effect on selective fertilization by pollen mixtures of wild and cultivated tomato species. *Theor. Appl. Genet.* 59:235-238.
- ZHANG Q.F., MAROOF M.A.S., LU T.Y. and SHEN, B.Z. (1992) Genetic diversity and differentiation of *indica* and *japonica* rice detected by RFLP Analysis. *Theor Appl Genet* 83:495-499
- ZHANG, X.G. (1990) F1 fertility in *indica/japonica* crosses. *Int. Rice Res. Newsl.* 15:6.
- ZHAO, X., WU, T. XIE, Y. and WU, R. (1989) Genome-specific repetitive sequences in the genus *Oryza*. *Theor. Appl. Genet.* 78:201-209.

**Annexes**



## ANNEXE I

Classification du genre *Oryza* (Second 1990)*Oryza*, section *Oryza*

## SATIVA GROUP (Genome A)

## Ancestral species

*O. rufipogon* Griff.  
(a "complex species")

*O. barthii* A. Chev.  
= *O. breviligulata*  
A. Chev. & Roehr.

*O. longistaminata*  
A. Chev. & Roehr.

*O. meridionalis* Ng  
annual ssp  
perennial ssp  
New Guinean ssp

## Cultivated forms

*O. sativa*":  
indica ssp  
japonica ssp:  
tropical  
temperate  
(+intermediates  
and others)

*O. glaberrima*

## Derived forms or "species"

## Weedy forms

Lists by no means exhaustive\*

*O. spontanea*:  
"red rice" (USA)  
"akai-mai" (Japan)  
"crodo" (France)  
"purure" (Zanzibar)  
etc...

*O. stapfii*

*O. madagascariensis*  
"Obake" forms =  
*O. longistaminata/O. sativa*

Australian red rice

?

## Newly evolved wild forms

*O. nivara* (in West Indies  
= *O. rufipogon/O. breviligulata*)

American *O. rufipogon*:  
(= *O. rufipogon/O. longistaminata/O. breviligulata*, and others...)

## LATIFOLIA GROUP (Genomes B to E)

## Ancestral species

*O. officinalis* Wall ex Watt  
(a "complex species",  
genome C)  
Chinese ssp  
South Asian ssp  
*O. punctata* Kotschy  
(genome B)  
*O. australiensis* Domin  
(genome E)

## Newly evolved "species"

Some names of imprecise application\*

Genome C introgressed  
from B or E(?)

Weedy *O. officinalis*  
*O. eichingeri* complex  
*O. rhizomalis*

## Allotetraploid complex:

genome BC	genome CD
<i>O. punctata</i> 4n	genome D = modified B+E?
(= <i>O. schweinfurthiana</i> ?)	<i>O. latifolia</i>
<i>O. malampuzhaensis</i>	<i>O. alta</i>
<i>O. minuta</i>	<i>O. grandiglumis</i>

.. The systematics of *Oryza*, section *Oryza*. Two largely independent groups of species are recognized: Sativa and Latifolia. Taxa are arranged by lines and columns. Columns are arranged according to an "evolutionary concept" of species: ancestral forms (in boxes), cultivated, weedy, and newly evolved wild forms (following the disturbance of distribution and habitats by man). Lines are arranged according to a "biological species concept" considering mostly the main genetic reproductive barriers. In Sativa group, for example, a single species would represent *O. rufipogon* and *O. sativa*, including all weedy forms. It should be called *O. sativa*. However, such possible revision of the nomenclature would not bear on a single universally recognizable species concept. Moreover, it does not appear to be practical. The present treatment is thus preferred.



## ANNEXE II

Isozyme markers in rice: genetic analysis and linkage relationships<sup>1</sup>J. L. PHAM<sup>2</sup>*Laboratoire d'amélioration des plantes, ORSTOM, BP V51 Abidjan, Côte d'Ivoire*

J. C. GLASZMANN

*IRAT-CIRAD, BP 5035, 34032 Montpellier CEDEX, France*

R. SANO AND P. BARBIER

*National Institute of Genetics, Misima, 411 Japan*

AND

A. GHESQUIÈRE<sup>3</sup> AND G. SECOND<sup>4</sup>*Laboratoire d'amélioration des plantes, ORSTOM, BP V51 Abidjan, Côte d'Ivoire*

Corresponding Editor: R. S. Singh

Received August 22, 1989

Accepted December 2, 1989

PHAM, J. L., GLASZMANN, J. C., SANO, R., BARBIER, P., GHESQUIÈRE, A., and SECOND, G. 1990. Isozyme markers in rice: genetic analysis and linkage relationships. *Genome*, 33: 348-359.

Segregations of rice isozymes made it possible to ascertain the genetic control of 13 enzymes by 30 loci. In addition to numerous cases of independence, several linkages were observed. *Got-2* and *Enp-1* were localized on chromosome 3 and a linkage group composed of *Pox-3*, *Pox-4*, and *Est-1* was identified. Inconsistencies of recombination rates between linked loci among different crosses were noted. Several cases of distorted segregations and pseudolinkages were recorded. The relationships between these results and the study of genome organization in cultivated rice are discussed.

**Key words:** *Oryza*, isozyme, genetic analysis, segregation distortion, linkage.

PHAM, J. L., GLASZMANN, J. C., SANO, R., BARBIER, P., GHESQUIÈRE, A., et SECOND, G. 1990. Isozyme markers in rice: genetic analysis and linkage relationships. *Genome*, 33 : 348-359.

L'étude de ségrégations enzymatiques chez le riz a permis de vérifier le déterminisme génétique de 13 systèmes enzymatiques. Trente locus sont concernés. Outre de nombreux cas d'indépendance, plusieurs liaisons entre locus ont été observées. Les locus *Got-2* et *Enp-1* ont été localisés sur le chromosome 3, et un groupe de linkage comportant *Pox-3*, *Pox-4* et *Est-1* a été identifié. Des contradictions sur les taux de recombinaison entre locus liés ont été notées entre descendance. Plusieurs cas de distorsions de ségrégations et de pseudo-liaisons ont été observés. Les relations entre ces résultats et l'étude de l'organisation du génome des riz cultivés sont discutées.

**Mots clés :** *Oryza*, isozyme, analyse génétique, distorsion de ségrégation, liaison.

## Introduction

Isozyme variation for more than 40 presumed loci has been used in studies on the genetic structure of cultivated rice and its closest wild relatives in the genus *Oryza* (Second 1982, 1985; Glaszmann 1987; de Kochko 1987). In contrast, there are few reports on the inheritance of isozymes and their linkage relationships in rice (for a review see Morishima and

Sano, 1984; Sano and Barbier 1985). The interpretation of the zymograms was initially based on segregations observed in inbreeding (species) versus outbreeding species of the genus *Oryza*. Species of the former group, in particular the two cultivated species *O. sativa* (Asian origin) and *O. glaberrima* (African origin), and their respective wild relatives *O. rufipogon* (annual form) and *O. breviligulata*, generally present a pattern of bands that can be attributed to homozygous loci. On the other hand, the closely related wild allogamous species *O. longistaminata* and the perennial form of *O. rufipogon* often show heterozygous patterns. These findings permitted the proposal of genetic models to explain the variation and the formulation of loci nomenclature (Second and Trouslot 1980). Recently, the use of trisomics permitted assigning several loci to their respective chromosomes (Ishikawa et al. 1986; Ranjhan et al. 1988; Wu et al. 1988). The present paper describes isozyme segregations in F<sub>2</sub> progeny obtained mostly from crosses between varieties of the common cultivated rice (*O. sativa*) and also from crosses involving *O. rufipogon* and *O. breviligulata*. Results obtained in four different laboratories are presented together. The experimental procedures differed slightly from one laboratory to the other, but there is value in bringing the overall information together. These joint results confirmed the genetic basis proposed previously for 30 genes

<sup>1</sup>Joint contribution: Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), 213 rue La Fayette, 75480 Paris CEDEX 10, France; Institut de recherches agronomiques tropicales et des cultures vivrières, Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (IRAT, CIRAD), BP 5035, 34032 Montpellier CEDEX, France; the International Rice Research Institute, P.O. Box 933, Manila, Philippines; and the National Institute of Genetics (NIG), Misima, 411 Japan.

<sup>2</sup>Author to whom all correspondence should be addressed at Station de génétique végétale, Centre national de la recherche scientifique, Institut national de la recherche agronomique, Université Paris-Sud, La Ferme du Moulon, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

<sup>3</sup>Present address: Laboratoire des ressources génétiques et amélioration des plantes tropicales, ORSTOM, BP 5045, 34032 Montpellier CEDEX, France.

<sup>4</sup>Present address: Department of Plant Breeding, 252 Emerson Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853-1902, U.S.A.

TABLE 1. Parental accessions

Accession	Collection <sup>a</sup>	Origin	Subspecific classification <sup>b</sup>
<i>O. breviligulata</i>			
101196	IRRI	Cameroon	
NB2	ORSTOM	Niger	
IB 3.5	ORSTOM	Ivory Coast	
2LB 104	ORSTOM	Mali	
SB 309	ORSTOM	Senegal	
WB 01	ORSTOM	Botswana	
<i>O. rufipogon</i>			
W106	NIG	India	
<i>O. sativa</i>			
Bansi	IRAT	India	<i>indica</i>
Bete 3	IRAT	Ivory Coast	<i>japonica</i>
BG 90-2	IRRI	Sri Lanka	<i>indica</i>
BS-20	ORSTOM	Guinea-Bissau	<i>indica</i>
Carreon	IRAT	Philippines	<i>indica</i>
Century Patna 231	IRRI	United States	<i>japonica</i>
Chianan 8	IRAT	Taiwan	<i>japonica</i>
C8669	NIG	India	<i>indica</i>
ES 70-6	ORSTOM	Tanzania	<i>japonica</i>
ES 79	ORSTOM	Tanzania	<i>indica</i>
Gaebyo	IRRI	Korea	<i>japonica</i>
H 105	IRAT	Sri Lanka	<i>indica</i>
IR 2298-PLPB	IRRI		<i>indica</i>
IR 50	IRRI		<i>indica</i>
IRAT 13	IRAT		<i>japonica</i>
Lung Sheng 1	IRAT	Taiwan	<i>japonica</i>
Moroberekan	IRAT	Ivory Coast	<i>japonica</i>
PJ 110	IRAT		Intermediate
Pursigui	IRAT	Philippines	<i>indica</i>
RT 1031-69	IRAT	Zaire	<i>japonica</i>
Simtharo	IRRI	Nepal	<i>indica</i>
SS 404	ORSTOM	Senegal	<i>indica</i>
Taichung Native 1	IRAT	Taiwan	<i>indica</i>
Tatsuminochi	IRAT	Japan	<i>japonica</i>
Tjembo Welut	IRAT	Indonesia	<i>japonica</i>
YS 309	ORSTOM	Guinea	<i>japonica</i>
YS 45-1	ORSTOM	Guinea	<i>japonica</i>
108	NIG	Taiwan	<i>indica</i>
143	NIG	Taiwan	<i>indica</i>
221	NIG	Philippines	<i>japonica</i>
414	NIG	India	<i>indica</i>
504 <sup>c</sup>	NIG	Taiwan	<i>japonica</i>
761	NIG		
868	NIG	China	<i>indica</i>

<sup>a</sup>IRAT, Institut de recherches agronomiques tropicales et des cultures vivrières (Montpellier, France); IRRI, International Rice Research Institute (Manila, Philippines); NIG, National Institute of Genetics (Misima, Japan); ORSTOM, Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (Paris, France).

<sup>b</sup>Classification of *O. sativa* accessions is based on their enzymatic profiles (Second 1982; Glaszmann 1987).

<sup>c</sup>Three isogenic lines of 504 were used: 504 *Rc wx dl* (noted 504Rc), 504 *g lg la* (noted 504g), and 504 *wx* (noted 504wx).

encoding 13 enzymes. Cosegregation analyses identified several linkages, which could be compared and integrated with the linkage map established on the basis of trisomic analysis.

### Material and methods

#### Material

The institutions storing collections and the country of origin of parental accessions are presented in Table 1. For *O. sativa* samples, the subspecific classification as determined by isozymes (Second 1982; Glaszmann 1987) is indicated. The 32 F<sub>2</sub> and 1 backcross

progeny studied are listed in Table 2. Of these, 28 are from *O. sativa* × *O. sativa* crosses, 3 are from *O. breviligulata* × *O. breviligulata* crosses, and 1 is from a cross *O. sativa* × *O. rufipogon*. The open-pollinated and self-pollinated (bagging of immature panicles) F<sub>1</sub> plants produced F<sub>2</sub> progeny (Table 2). Fertility measured in terms of seed set was determined for some of the F<sub>1</sub> plants (Table 2). This is important information because high sterility may result in a segregation bias in the following generation (Oka 1953). It would obviously be better to use only progeny of highly fertile hybrids, but lack of isozyme polymorphisms in related accessions often requires hybridization of varieties belonging to distinct varietal groups, in which semisterility is com-

TABLE 2. Origin of F<sub>2</sub> and BC progeny: parents, F<sub>1</sub> fertility, control of self-pollination

Cross		F <sub>1</sub> fertility (%)	F <sub>1</sub> hybrid pollination
SB 309	× WB 01		Controlled
IB 3.5	× 2LB 104		Controlled
101196	× NB2		Controlled
BS20	× YS 45-1	76	Controlled
108	× BS 20	98	Controlled
ES 70-6	× YS 309	27	Controlled
ES 70-6	× SS 404	25	Controlled
ES 70-6	× ES 79		Controlled
YS 45-1	× ES79		Controlled
108	× YS 309	80	Controlled
BS 117	× YS 138-3	20	Controlled
IR 50	× IR 2298		Open
CP 231	× Gaebyo		Open
IR 50	× Simtharo		Open
868	× 504	48	Controlled
143	× 221	26	Controlled
108	× W106	91	Controlled
C8669	× 221	51	Controlled
414	× 504	48	Controlled
761	× 504		Controlled
(761 × 504)	× 504		
Pooled F <sub>2</sub>			
Carreon	× Chianan 8	30	Open
Carreon	× IRAT 13		Open
Carreon	× Bete 3		Open
Bansi	× Tjempo Welut		Open
Bansi	× IRAT 13		Open
Bete 3	× Bansi	77	Open
H 105	× RT 1031-69		Open
Pursigui	× Lung Sheng	27	Open
Pursigui	× Chianan 8	35	Open
PJ 110	× Taichung Native 1		Open
Moroberekan	× PJ 110		Open

monly observed in F<sub>1</sub> (Pai et al. 1975; Pai and Fu 1977; Second 1982; Glaszmann et al. 1984; Glaszmann 1987; de Kochko 1987).

#### Isozyme electrophoresis

Isozyme electrophoresis was performed in starch gels. Descriptions of most electrophoretic buffer systems used in the various laboratories involved are listed in references cited in Table 3. The systems used at the National Institute of Genetics (Misima) (references 5 and 6 in footnote *a* of Table 3) are as follows.

*System 1*—Electrode buffer 0.19 M boric acid, adjusted to pH 8.0; gel buffer 9 parts 0.032 M Tris (adjusted to pH 8.0 with citric acid) : 1 part electrode buffer.

*System 2*—Electrode buffer 0.4 M Tris, adjusted to pH 8.0 with citric acid; gel buffer 0.015 M histidine-HCl, adjusted to pH 8.0 with Tris.

Thirteen enzymes were studied: alcohol dehydrogenase (ADH), malate dehydrogenase (MDH), isocitrate dehydrogenase (ICD), 6-phosphogluconate dehydrogenase (PGD), shikimate dehydrogenase (SDH), phosphoglucose isomerase (PGI), catalase (CAT), peroxidase (POX), glutamate oxaloacetate transaminase (aspartate aminotransferase) (GOT), esterase (EST), acid phosphatase (ACP), endopeptidase (ENP), and aminopeptidase (AMP).

For loci nomenclature, the recommendations of the Committee on Gene Symbolisation, Nomenclature and Linkage Groups of the Rice Genetics Cooperative were followed (Morishima and Glaszmann 1986). The correspondence with previously used nomenclatures is given in Table 3.

#### Nonisozymic markers

Seven nonisozyme loci, whose chromosomal locations are known (Kinoshita 1984, numbering system by Khush et al. 1984), segregated in some crosses; *wx* (glutinous endosperm, chromosome 3), *Rc* (brown pericarp and seed coat, chromosome 7), *g* (long sterile lemmas, chromosome 7), *lg* (liguleless, chromosome 12), *dl* ("daikoku dwarf," chromosome 5), *la* ("lazy" growth habit, chromosome 11), and *Ph* (phenol staining of the hulls, chromosome 12). Relationships between various systems of numbering of chromosomes and linkage groups are given by Khush et al. (1984).

#### Statistical analysis

Most of the F<sub>2</sub> progeny were considered individually. However, a special population, called "pooled F<sub>2</sub>," was constituted by grouping 11 small F<sub>2</sub> populations derived from crosses between different varietal types (Table 2); the three genotypic classes were obtained by pooling, respectively, female parent, F<sub>1</sub>, and male parent genotypes.

For each locus under study, the observed segregations were tested against the expected Mendelian ratio (1:2:1 or 3:1, according to whether identification of heterozygous genotypes was possible or not). In case of non-Mendelian segregations, the equiprobability of alleles (*p*, *q*) and the distribution of genotype frequencies according to *p*<sup>2</sup>:2*pq*:*q*<sup>2</sup> (random assortment) were tested to check the occurrence of gametic or zygotic selection. The frequency of null alleles was estimated on the basis of the frequency of the double-recessive homozygote. Independence of allelic associations at all

TABLE 3. Relationships between various nomenclatures for isozyme loci

This paper	Previous nomenclature <sup>a</sup>						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Acp-1</i>	PAC.AMC			ACP-1			
<i>Acp-2</i>	PAC.FaSa	PAC-2		ACP-2			
<i>Acp-4</i>		PAC-1					
<i>Adh-1</i>	ADH-A						Adh-1
<i>Amp-1</i>	LAP-E	LAP					
<i>Amp-2</i>		ΛAP				Amp-2	
<i>Amp-3</i>	LAP-F					Amp-1	
<i>Cat-1</i>	CAT-A	CAT			CAT-1		
<i>Enp-1</i>	EP-A						
<i>Est-1</i>	EST-D	EST-3	EST-1				
<i>Est-2</i>	EST-E	EST-4	EST-2		EST-2		
<i>Est-3</i>	EST-J		EST-3				
<i>Est-5</i>	EST-B						
<i>Est-6</i>	EST-C	EST-2					
<i>Est-7</i>	EST-I	EST-5					
<i>Est-8</i>		EST-6					
<i>Est-9</i>	EST-Ca	EST-1				Est-C1	Est-8
<i>Got-1</i>	GOT-A						
<i>Got-2</i>	GOT-B						
<i>Got-3</i>	GOT-C						
<i>Icd-1</i>	ICD-A						
<i>Mdh-1</i>	MDH-A						
<i>Pgd-1</i>	PGD-A					Pgd-1	
<i>Pgi-1</i>	PGI-A	PGI-1			PGI-1		Pgi-1
<i>Pgi-2</i>	PGI-B	PGI-2			PGI-2		
<i>Pgi-3</i>		PGI-3					
<i>Pox-2</i>				Px2			
<i>Pox-3</i>	POX-B	POX					
<i>Pox-4</i>	POX-C						
<i>Sdh-1</i>	SDH-A					Sdh-1	Sdh-1

<sup>a</sup>1, Troustot and Second 1980; Second 1982; de Kochko 1987; 2, Glaszmann et al. 1984; 3, Nakagahra et al. 1975; Nakagahra 1977; 4, Pai et al. 1973; Pai et al. 1975; 5, Morishima and Sano 1984; 6, Sano and Barbier 1986; 7, Ranjhan et al. 1988.

pairs of loci was tested. The goodness of fit ( $\chi^2$ ) of the two marginal segregations to a Mendelian segregation and the linkage between these loci were calculated. Progeny showing strong one-locus distortions were not used for linkage calculations. Recombination values and standard errors were estimated by the maximum-likelihood method (Allard 1956).

## Results

### Monogenic segregations

Segregations were analysed for a total of 30 loci among 121 populations (Table 4).

Ninety-five segregations fitted expected monogenic Mendelian segregation, whereas 26 significantly deviated from it. However, each locus displayed at least one Mendelian segregation among the several  $F_2$ s tested.

Of the 30 loci investigated, 18 showed deviations from expected ratios in 12 different progeny (including "pooled  $F_2$ "). Eight of these progeny were derived from controlled self-pollination. Thus, cross-pollination, if it occurred, is not a sufficient explanation for the deviations observed in free-pollinated progeny.

Seven of the deviant progeny were obtained from crosses between *O. sativa* subspecies *indica* and *japonica*, and four from crosses within the same subspecies. Among the latter, two involved parents BS20 and YS309, which are of partic-

ular interest because they show traces of introgression from the wild species *O. longistaminata*.

The distorted segregations were analysed to describe the parameters of distortion (Table 5). Allelic frequencies significantly differed from the expected (1:1) ratio in almost all cases, mostly in favor of *O. sativa* ssp *indica* alleles. However, a random reassortment of gametes was observed in most  $F_2$ s.

### Linkage

Linkage tests for 155 pairs of isozyme loci and other markers are summarized in Fig. 1. Detailed cosegregations for the loci among which linkage was detected are presented in Table 6.

Evidence was found for linkage between *Acp-1* and *Acp-2*, *Adh-1* and *Pgd-1*, *Pgi-2* and *Got-2*, and *Enp-1* and *Cat-1* and for the existence of linkage groups *Pgi-1/Est-2/Amp-3/wx* and *Pox-3/Pox-4/Est-1*.

Contradictory results, i.e., either independence or linkage, depending on the progeny, were found in the combinations *Acp-1/Pox-2*, *Sdh-1/Acp-1*, *Est-2/Cat-1*, *Est-2/Sdh-1*, and *Est-2/Acp-1*. The recombination frequency between *Pgi-2* and *wx* also showed some variation. However, enough evidence can be obtained to show that these two loci belong to the same linkage group.

TABLE 4. Monolocus F<sub>2</sub> segregations at 30 presumed loci

Locus	Cross P <sub>1</sub> × P <sub>2</sub>	Species or subspecies <sup>a</sup>	No. of F <sub>2</sub> genotypes			χ <sup>2</sup>
			P <sub>1</sub>	F <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	
<i>Acp-1</i>	ES 70-6 × SS 404	<i>j</i> × <i>i</i>	48	187	159	63.56***
	BS 20 × YS 45-1	<i>i</i> × <i>j</i>	59	133	75	1.92
	108 × BS 20	<i>i</i> × <i>i</i>	18	22	8	4.50
	143 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	32	55	23	1.47
	C8669 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	73	124	55	2.63
	761 × 504R	<i>i</i> × <i>j</i>	47	69	30	4.40
	761 × 504g	<i>i</i> × <i>j</i>	34	64	21	3.52
<i>Acp-2</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j</i> × <i>j</i>	85	—247—	—	0.06
	ES 70-6 × SS 404	<i>j</i> × <i>i</i>	47	—351—	—	36.90***
	BS 20 × YS 45-1	<i>i</i> × <i>j</i>	—193—	—	74	1.05
	Pooled F <sub>2</sub>		63	—199—	—	0.13
<i>Acp-4</i>			62	100	61	2.38
<i>Amp-1</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j</i> × <i>j</i>	76	175	73	2.14
	108 × YS 309	<i>i</i> × <i>j</i>	24	49	11	6.36*
	IR 50 × Simtharo	<i>i</i> × <i>i</i>	48	67	31	4.95
	868 × 504	<i>i</i> × <i>j</i>	25	48	18	1.35
	C8669 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	17	42	23	0.93
<i>Amp-2</i>	868 × 504R	<i>i</i> × <i>j</i>	16	46	29	3.73
	414 × 504R	<i>i</i> × <i>j</i>	18	44	27	1.83
	C8669 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	24	43	15	2.17
	Pooled F <sub>2</sub>		68	132	79	1.67
<i>Amp-3</i>	IR 50 × Simtharo	<i>i</i> × <i>i</i>	37	170	104	1.39
	CP 231 × Gaebyo	<i>j</i> × <i>j</i>	3	27	56	80.23***
	IR 50 × IR 2298	<i>i</i> × <i>i</i>	53	93	49	0.58
	868 × 504R	<i>i</i> × <i>j</i>	25	48	18	1.35
	C8669 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	17	42	23	0.93
<i>Adh-1</i>	BS 20 × YS 45-1	<i>i</i> × <i>j</i>	69	130	62	0.38
	108 × BS 20	<i>i</i> × <i>i</i>	54	90	29	7.51*
<i>Cat-1</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j</i> × <i>j</i>	76	149	90	2.16
	ES 70-6 × SS 404	<i>j</i> × <i>i</i>	105	178	108	3.18
	414 × 504	<i>i</i> × <i>j</i>	36	45	29	4.53
	868 × 504	<i>i</i> × <i>j</i>	18	45	18	1.00
	C8669 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	83	85	37	26.62***
	Pooled F <sub>2</sub>		32	63	28	0.33
<i>Enp-1</i>	ES 70-6 × ES 79	<i>j</i> × <i>i</i>	—76—	—	39	4.87*
	YS 45-1 × ES 79	<i>j</i> × <i>i</i>	—65—	—	15	1.67
<i>Est-1</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j</i> × <i>j</i>	90	—238—	—	1.04
	ES 70-6 × SS 404	<i>j</i> × <i>i</i>	94	—295—	—	0.15
	BS 20 × YS 45-1	<i>i</i> × <i>j</i>	—145—	—	57	1.12
	BS 117 × YS 138-3	<i>i</i> × <i>j</i>	—34—	—	14	0.44
	IR 50 × Simtharo	<i>i</i> × <i>i</i>	24	—122—	—	5.70*
	IR 50 × IR 2298	<i>i</i> × <i>i</i>	39	—156—	—	2.60
	Pooled F <sub>2</sub>		23	—56—	—	0.71
<i>Est-2</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j</i> × <i>j</i>	64	—264—	—	2.98
	ES 70-6 × SS 404	<i>j</i> × <i>i</i>	23	—375—	—	78.42***
	108 × BS 20	<i>i</i> × <i>i</i>	40	80	53	2.93
	108 × YS 309	<i>i</i> × <i>j</i>	20	45	30	2.37
	IR 50 × Simtharo	<i>i</i> × <i>i</i>	39	66	41	1.40
	IR 50 × IR 2298	<i>i</i> × <i>i</i>	53	92	50	0.71
	CP 231 × Gaebyo	<i>j</i> × <i>j</i>	30	—56—	—	73.81***
	Pooled F <sub>2</sub>		14	28	8	2.16
	868 × 504R	<i>i</i> × <i>j</i>	—75—	—	16	2.67
	143 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	22	57	31	1.62
C8669 × 221	<i>i</i> × <i>j</i>	—187—	—	67	0.25	
<i>Est-3</i>	IR 50 × Simtharo	<i>i</i> × <i>i</i>	9	28	9	2.17
<i>Est-5</i>	BS 117 × YS 138-3	<i>i</i> × <i>j</i>	8	—40—	—	1.78
<i>Est-6</i>	BS 117 × YS 138-3	<i>i</i> × <i>j</i>	—40—	—	8	1.78
	Pooled F <sub>2</sub>		41	—97—	—	1.63
<i>Est-7</i>	BO4 × NB2	<i>B</i> × <i>B</i>	24	—77—	—	0.08
	Pooled F <sub>2</sub>		23	—59—	—	0.44
<i>Est-8</i>	Pooled F <sub>2</sub>		59	—167—	—	0.90

TABLE 4 (concluded)

Locus	Cross P <sub>1</sub> × P <sub>2</sub>	Species or subspecies <sup>a</sup>	No. of F <sub>2</sub> genotypes			χ <sup>2</sup>	
			P <sub>1</sub>	F <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>		
<i>Est-9</i>	ES 70-6 × SS 404	<i>j × i</i>	19	41	26	1.32	
	IR 50 × IR 2298	<i>i × i</i>	36	102	57	4.94	
	414 × 504	<i>i × j</i>	34	45	31	3.80	
	868 × 504R	<i>i × i</i>	21	43	27	1.07	
	C8669 × 221	<i>i × j</i>	19	31	32	9.00*	
	Pooled F <sub>2</sub>		66	89	54	5.98	
<i>Got-1</i>	BS 20 × YS 45-1	<i>i × j</i>	76	135	47	7.08*	
	108 × BS 20	<i>i × i</i>	22	48	21	0.30	
<i>Got-2</i>	SB 309 × WB 01	<i>B × B</i>	39	86	41	0.27	
<i>Got-3</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j × j</i>	80	168	70	1.33	
	108 × YS 309	<i>i × j</i>	16	51	30	4.30	
<i>Icd-1</i>	IR 50 × IR 2298	<i>i × i</i>	37	113	45	5.58	
	CP 231 × Gaebyo	<i>j × j</i>	15	43	28	3.93	
<i>Mdh-1</i>	BO4 × NB2	<i>B × B</i>	27	44	30	1.85	
<i>Pgd-1</i>	ES 70-6 × YS 309	<i>j × j</i>	121	143	45	39.60***	
	ES 70-6 × SS 404	<i>j × i</i>	99	186	112	2.43	
	108 × BS 20	<i>i × i</i>	31	50	11	9.39**	
	108 × YS 309	<i>i × j</i>	13	31	5	6.06*	
	C8669 × 221	<i>i × i</i>	26	40	16	2.49	
	414 × 504	<i>i × j</i>	42	36	8	29.16***	
	868 × 504	<i>i × j</i>	21	43	27	1.07	
	<i>Pgi-1</i>	SB 309 × WB 01	<i>B × B</i>	42	86	38	0.41
		108 × BS 20	<i>i × i</i>	20	49	19	1.16
		108 × YS 309	<i>i × j</i>	24	44	29	1.35
BS 117 × YS 138-3		<i>i × j</i>	13	22	13	0.33	
IR 50 × Simtharo		<i>i × i</i>	36	80	30	1.84	
Morober. × PJ 110		<i>j × i</i>	11	32	11	1.85	
868 × 504		<i>i × j</i>	28	48	15	3.99	
C8669 × 221		<i>i × j</i>	74	111	68	4.08	
143 × 221		<i>j × i</i>	23	60	27	1.20	
108 × W106		<i>i × R</i>	22	39	23	0.45	
<i>Pgi-2</i>	868 × 504R	<i>i × j</i>	28	48	15	4.99	
	761 × 504R	<i>i × j</i>	55	56	35	13.40**	
	761 × 504g	<i>i × j</i>	21	64	34	3.52	
	SB 309 × WB 01	<i>B × B</i>	34	86	46	1.95	
	ES 70-6 × SS 404	<i>j × i</i>	56	206	136	32.65***	
	BS 20 × YS 45-1	<i>i × j</i>	68	123	65	0.46	
	108 × YS 309	<i>i × j</i>	22	43	32	3.31	
	IR 50 × IR 2298	<i>i × i</i>	51	92	51	0.52	
	868 × 504R	<i>i × j</i>	24	44	23	0.12	
	C8669 × 221	<i>i × j</i>	71	104	78	8.39*	
<i>Pgi-3</i>	143 × 221	<i>i × j</i>	26	54	30	0.33	
	108 × W106	<i>i × R</i>	16	45	20	1.40	
	Pooled F <sub>2</sub>		28	33	29	6.42*	
	761 × 504R	<i>i × j</i>	56	64	26	14.55***	
	Pooled F <sub>2</sub>		65	187		0.08	
	<i>Pox-2</i>	143 × 221	<i>i × j</i>	83		27	0.01
		761 × 504R	<i>i × j</i>	124		22	7.68**
		761 × 504g	<i>i × j</i>	96		26	0.63
	<i>Pox-3</i>	IB 3.5 × 2LB 104	<i>B × B</i>	15	29	11	0.75
		108 × BS 20	<i>i × i</i>	10	45	13	7.38*
108 × YS 309		<i>i × j</i>	8	26	22	7.29*	
<i>Pox-4</i>	IB 3.5 × 2LB 104	<i>B × B</i>	14	41		0.01	
	ES 70-6 × YS 309	<i>j × j</i>	65	102	76	7.26*	
	ES 70-6 × SS 404	<i>j × i</i>	71	133	84	2.85	
<i>Sdh-1</i>	ES 70-6 × SS 404	<i>j × i</i>	45	185	157	65.57***	
	BS 20 × YS 45-1	<i>i × i</i>	72	133	59	1.30	
	108 × BS 20	<i>i × i</i>	19	50	19	1.64	
	C8669 × 221	<i>i × j</i>	16	47	19	1.98	
	414 × 504	<i>i × j</i>	26	40	23	1.11	

<sup>a</sup>*B. O. breviligulata*; *R. O. rufipogon*; *i. indica*; *j. japonica*.NOTE: \*, significant at  $P < 0.05$ ; \*\*, significant at  $P < 0.01$ ; \*\*\*, significant at  $P < 0.001$ .

TABLE 5. Distorted F<sub>2</sub> segregations

Chromosome	Locus	Cross (P <sub>1</sub> × P <sub>2</sub> )	Allele frequency		χ <sup>2</sup>	
			P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	Allele frequency homogeneity	F <sub>2</sub> distribution (p <sup>2</sup> :2pq:q <sup>2</sup> )
1	<i>Got-1</i>	BS 20 × YS 45-1	0.556	0.444	6.52*	0.93
3	<i>Pgi-2</i>	ES 70-6 × SS 404	0.399	0.601	32.16**	2.47
	<i>Amp-3</i>	CP231 × Gaebyo	0.192	0.808	65.3 ***	0.01
	<i>Est-2</i>	ES 70-6 × SS 404	0.240	0.760		
		CP231 × Gaebyo	0.193	0.807		
	<i>Cat-1</i>	C8669 × 221	0.612	0.388	20.64***	3.29
		ES 70-6 × ES 79	0.404	0.596	8.42**	0.10
	<i>Enp-1</i>	ES 70-6 × ES 79	0.418	0.582	8.42**	0.10
4	<i>Pgi-1</i>	761 × 504Rc	0.568	0.432	5.48**	6.97**
6	<i>Acp-1</i>	ES 70-6 × SS 404	0.359	0.641	62.54***	0.38
	<i>Pox-2</i>	761 × 504Rc	0.388	0.612		
	<i>Sdh-1</i>	ES 70-6 × SS 404	0.355	0.645	64.83***	0.73
7	<i>Est-9</i>	C8669 × 221	0.579	0.421	4.12*	4.13*
8	<i>Amp-2</i>	108 × YS 309	0.577	0.423	4.02*	3.20
11	<i>Adh-1</i>	108 × BS 20	0.572	0.428	7.23*	0.68
	<i>Pgd-1</i>	ES 70-6 × YS 309	0.623	0.377	37.39***	0.07
		108 × BS 20	0.609	0.391	8.70*	1.83
		108 × YS 309	0.582	0.418	2.61	4.41*
?	<i>Est-1</i>	1R50 × Simtharo	0.405	0.595		
	<i>Pox-3</i>	108 × BS 20	0.478	0.522	0.26	7.38*
		108 × YS 309	0.375	0.625	7.00*	0.01
	<i>Pox-4</i>	ES 70-6 × YS 309	0.477	0.523	1.00	6.13*

Note: \*, significant at  $P < 0.05$ ; \*\*, significant at  $P < 0.01$ ; \*\*\*, significant at  $P < 0.001$ .

Loose linkage (over 35% recombination) was found, in one progeny for each pair of loci, between *Amp-2* and *Pgi-3*, *Pgi-3* and *Acp-2*, *Pox-3* and *Pgi-2*, *Pgi-1* and *Est-3*, *Acp-1* and *Est-6*, and *Ig* and *Pox-2* (results not shown). For the reasons that are discussed below, such results have to be considered with care, and further analyses are required for confirmation.

### Discussion

The results presented here provide new data on the inheritance of enzymatic systems and linkage of isozyme loci. They also point out cases of distorted monolocus and bilocus segregations.

#### Genetic control and linkage relationships newly found

For each of the 30 investigated loci, in particular for loci *Acp-4*, *Enp-1*, *Est-6*, *Est-7*, *Est-8*, *Got-2*, *Got-3*, *Mdh-1*, *Pgi-3*, and *Pox-4*, for which no segregation data had been presented before, at least one progeny supported the hypothesis of a monogenic segregation. The inheritance models previously proposed are therefore confirmed, in spite of the occurrence of some deviant segregations.

Numerous cases of independence between loci were demonstrated. None of them is in contradiction with the information previously obtained either from classical linkage studies or from trisomic analyses (Ishikawa et al. 1986; Ranjhan et al. 1988; Wu et al. 1988). Our results also confirmed the linkage of *Acp-1* and *Acp-2* (Pai et al. 1973), of *Adh-1* and *Pgd-1* (Wu et al. 1988), of *Pgi-2* and *Est-2* (Morishima and Sano 1984), and of *wx*, *Est-2* and *Amp-3* (Nakagahra and Hayashi 1976; Sano and Barbier 1985). New linkages were demonstrated, namely, between *Pgi-2* and *Got-2*, *Enp-1* and *Cat-1*, *Est-1* and *Pox-4*, and *Pox-3* and *Pox-4*.

Various progeny yielded contradictory results for the pairs of loci *Acp-1/Pox-2*, *Acp-1/Sdh-1*, and *Cat-1/Est-2*. Ranjhan et al. (1988) and Wu et al. (1988) localized *Sdh-1* and *Acp-1* on chromosome 6 by dosage effect in heterozygous trisomics. Furthermore, Wu et al. (1988) reported the existence of a tight linkage between *Pox-2* and *Sdh-1* and a moderate linkage between *Pox-2* and *Acp-1*, which suggested that *Pox-2* resides between *Sdh-1* and *Acp-1*. Thus, the associations we observed probably indicate a genuine linkage. Other inconsistencies of linkage values are noteworthy: the linkage between *Est-2* and *Cat-1* observed in 1 progeny of 3 is in contradiction with the independence reported by Second and Morishima (1981). Thus, this might be another instance of inconsistent recombination value on a chromosome, since Wu et al. (1988) localized *Cat-1* on chromosome 3 by trisomic analysis, where *Est-2* is also located.

Another contradiction involving *Est-2* was observed in the only F<sub>2</sub> ES70-6 × SS404, where a significant result of linkage test was calculated for couples *Est-2/Acp-1* and *Est-2/Sdh-1*. These results are in contradiction with those obtained with trisomics, which show the location of *Acp-1* and *Sdh-1* on chromosome 6 (Ranjhan et al. 1988; Wu et al. 1988).

Our observations combined with the information presented by Wu et al. (1988) are summarized in Fig. 2. *Got-2* and *Enp-1* are newly localized on chromosome 3. Their precise position on that chromosome remains to be determined. A new isozyme linkage group is identified with *Est-1*, *Pox-3*, and *Pox-4* but is not assigned as yet to any given chromosome.

Of the 30 loci under study, 18 could be assigned to one of the 12 chromosomes. As shown in Fig. 2, the distribu-

TABLE 6. Cosegregation data for 19 pairs of loci

Loci		Cross (parental genotypes)		Segregation <sup>a</sup>						χ <sup>2</sup>			% recombination (mean ± SD)		
				Locus A		Locus B				Locus A	Locus B	Linkage <sup>b</sup>			
A	B	AB	ab	AA	BB	B-	Bb	b-	bb	A	B				
<i>Acp-1</i>	<i>Pox-2</i>	868 × 504		AA		19			6	0.00	2.01	1.59	44.1 ± 6.7		
				Aa		32			8						
				aa		10			6						
		143 × 221			AA		28			4	1.47	0.01	6.65*	35.0 ± 5.4	
					Aa		42			13					
					aa		13			10					
		761 × 504			AA		45			2	7.68*	4.40*	8.26*	33.5 ± 4.6	
					Aa		57			12					
					aa		28			8					
		761 × 504			AA		37			1	7.48*	4.71*	22.16***	17.3 ± 3.6	
					Aa		64			6					
					aa		10			12					
	(868 × 504) × 504 Backcross			Aa			20		4	1.60	0.01		12.5 ± 5.2		
				aa			1		15						
<i>Adh-1</i>	<i>Pgd-1</i>	108 × BS 20		AA	13		5		2	3.72	2.04		20.3 ± 4.0		
				Aa	7		26		4						
				aa	0		4		6						
<i>Amp-2</i>	<i>Pgi-3</i>	Pool F <sub>2</sub>		AA		31			22	3.11	0.10	12.09*	37.0 ± 4.0		
				Aa		70			23						
				aa		53			9						
<i>Amp-3</i>	<i>Est-2</i>	IR 50 × Simtharo		AA	87		0		0	2.82	2.82		0		
				Aa	0		170		0						
				aa	0		0		104						
		IR 50 × IR 2298			AA	53		0		0	0.58	0.71		0.3 ± 0.3	
					Aa	0		92		1					
					aa	0		0		49					
		868 × 504			AA		25			0	1.35	2.67		4.9 ± 2.3	
					Aa		47			1					
					aa		3			15					
		C8669 × 221			AA	17			0		0.73	0.10		2.6 ± 1.8	
					Aa	2			40						
					aa	0			22						
	CP 231 × Gaebyo			AA		3			0	73.83***	73.83***		0		
				Aa		27			0						
				aa		0			56						
<i>Amp-2</i>	<i>Pgi-3</i>	Pooled F <sub>2</sub>		AA		31			22	3.11	0.10	12.09**	37.0 ± 4.0		
				Aa		70			23						
				aa		53			9						
<i>Cat-1</i>	<i>Est-2</i>	868 × 504Rc		AA		17			1	1.00	1.19	7.64*	27.5 ± 5.7		
				Aa		38			7						
				aa		10			8						
		C8669 × 221			AA	25			58		26.62***	0.37	2.20		
					Aa	23			62						
					aa	7			30						
		ES70-6 × YS309			AA	14			62		2.28	5.20*	0.59		
					Aa	31			117						
					aa	16			74						
	<i>Enp-1</i>	<i>Cat-1</i>	ES 70-6 × ES 79		A-	18		56		2	4.87*	10.43**		2.2 ± 1.4	
					aa	0		1		38					
	<i>Est-1</i>	<i>Pox-4</i>	Es 70-6 × YS 309		AA	38		21		11	1.88	7.26*	46.16***	29.5 ± 3.4	
a-					27		81		65						
aa					32		28		8	0.08	3.62	28.90***	31.9 ± 3.3		
<i>Est-2</i>	<i>Acp-1</i>	Es 70-6 × SS 404		AA	38		99		75						
				A-	3		12		8	76.85***	63.82***	14.33***			
				a-	45		174		151						
<i>Est-2</i>	<i>Acp-2</i>	ES 70-6 × YS309		A-		193			66	5.53	0.01	0.04			
				aa		47			15						
<i>Est-2</i>	<i>Pgi-2</i>	108 × YS 309		AA	16		3		1	2.39	4.81		13.5 ± 2.7		
				Aa	4		33		8						
				aa	1		5		24						
	Bete 3 × Bansi			A-	5		16		15	0.24	3.92	25.84***	18.1 ± 5.9		
				aa	11		2		1						

TABLE 6 (concluded)

Loci	Cross (parental genotypes)		Segregation <sup>a</sup>					χ <sup>2</sup>			% recombination (mean ± SD)		
			Locus A	Locus B				Locus A	Locus B	Linkage <sup>b</sup>			
A	B	AB	ab	AA	BB	B-	Bb	b-	bb	A	B		
		IR 50 × IR 2298		AA	47		7		0	0.90	0.52		7.5 ± 1.4
				Aa	4		78		10				
				aa	0		8		42				
		868 × 504		A-	49		74		17	3.75	2.05	38.88***	19.7 ± 3.3
				aa	2		8		22				
		143 × 221		AA	16		6		0	1.62	0.33	95.72***	13.2 ± 2.5
				Aa	9		43		5				
				aa	1		5		25				
		108 × W06		AA	18		6		0	0.57	1.59		10.7 ± 2.5
				Aa	5		34		1				
				aa	0		5		15				
		C8669 × 221		A-	74		91		20	0.34	7.97*	122.76***	16.0 ± 2.5
				A-	3		13		51				
<i>Est-2</i>	<i>Sdh-1</i>	ES 70-6 × SS 404		AA	3		8		10	76.4 ***	64.8 ***	11.9 ***	
				a-	45		176		146				
		108 × BS20		AA	6		18		4	1.91	1.62	4.69	
				Aa	11		20		9				
				aa	2		13		7				
<i>Pgi-2</i>	<i>Amp-3</i>	IR 50 × IR 2298		AA	47		4		0	0.63	0.58		7.2 ± 1.4
				Aa	6		79		7				
				aa	0		10		42				
		868 × 504		AA	18		4		2	1.35	0.12		15.6 ± 3.0
				Aa	7		35		2				
				aa	0		9		14				
		C8669 × 221		AA	14		6		3	3.34	0.93		16.6 ± 3.2
				Aa	2		29		2				
				aa	1		7		18				
<i>Pgi-2</i>	<i>Got-2</i>	SB 309 × WB 01		AA	17		13		4	1.95	0.26	26.02***	30.8 ± 3.2
				Aa	15		55		16				
				aa	7		18		21				
<i>Pox-4</i>	<i>Pox-3</i>	IB 3.5 × 2 LB 104		A-	2		28		11	0.01	0.77		5.3 ± 3.1
				aa	13		1		0				
<i>Sdh-1</i>	<i>Acp-1</i>	BS 20 × YS 45-1		AA	24		34		14	1.30	2.45	36.00***	34.4 ± 2.7
				Aa	27		79		27				
				aa	6		19		34				
		C8669 × 221		AA	5		12		1	0.41	1.71	5.07	38.7 ± 5.2
				Aa	7		24		10				
				aa	4		10		8				
		414 × 504		AA	7		15		5	1.36	1.11	2.15	47.3 ± 5.3
				Aa	13		17		11				
				aa	6		8		7				
<i>wx</i>	<i>Est-2</i>	868 × 504		A-		67			8	2.67	2.67	10.11***	24.0 ± 3.6
				aa		8			8				
		143 × 221		A-	21		50		12	0.01	1.62	33.56***	19.6 ± 4.2
				aa	1		7		19				
		C8669 × 221		A-	61		133			0.53	0.34	10.19***	24.5 ± 2.2
				aa	6		52						
<i>wx</i>	<i>Amp-3</i>	868 × 504		A-	25		40		10	2.67	1.35		23.9 ± 5.0
				aa	0		8		8				
		C8669 × 221		A-	15		32		13	0.15	0.93	5.90	34.6 ± 6.2
				aa	2		10		10				
<i>wx</i>	<i>Pgi-2</i>	143 × 221		A-	22		45		16	0.01	0.33	11.36***	32.8 ± 5.3
				aa	4		9		14				
		868 × 504		A-	22		37		16	2.67	0.12	3.32	36.3 ± 6.0
				aa	2		7		7				
		C8669 × 221		A-	61		76		57	0.15	3.34	0.66	45.6 ± 6.7
				aa	10		28		21				

NOTE: *Acp-1* and *Acp-2* are very tightly linked (Fig. 1); thus, they do not both appear in the table and are discussed together in the text. \*, significant at  $P < 0.05$ ; \*\*, significant at  $P < 0.01$ ; \*\*\*, significant at  $P < 0.001$ .

<sup>a</sup>Symbols A-, B-, and b- are used when heterozygous genotypes cannot be identified because of segregation of a null allele.

<sup>b</sup>Test was not performed when some classes were too small. This only occurred in clear cases of linkage.



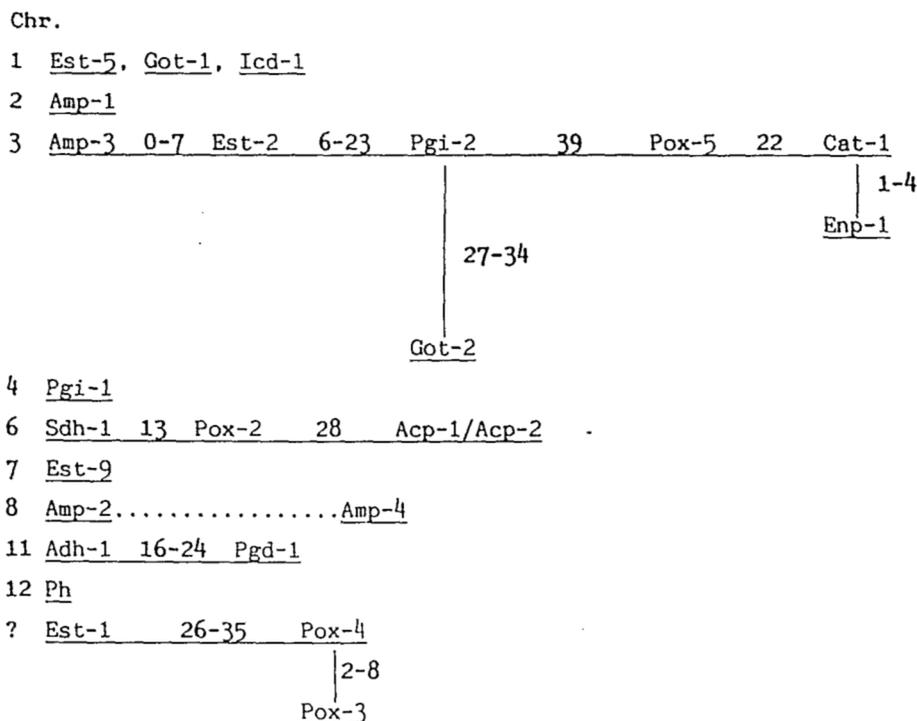


FIG. 2. Chromosomal location of isozyme loci in rice (from our results and those of Wu et al. 1988). The distances given are the extreme calculated values. .... independent; ———, linked. Orthogonal positions indicate linkages that are not orientated in relation to the others. Chr., chromosome.

tion of isozyme markers throughout the genome is heterogeneous since seven of them are found on chromosome 3. However, at least eight chromosomes are marked, which makes isozyme loci potentially useful genetic markers in breeding programs.

This is also of some value for the study of rice genetic resources. Several of the diagnostic loci for the *indica-japonica* differentiation, such as *Acp-1* and *Ph* (Oka 1958; Shahi et al. 1969; Pai and Fu 1977; Inouye and Hagiwara 1980; Ghesquière and Second 1983), *Pgi-1*, *Pgi-2/Est-2*, *Cat-1* (Second 1982), or *Pgi-1*, *Acp-2*, and *Amp-2* (Glaszmann et al. 1984), are not chromosomally linked. Therefore, gametic disequilibrium should be attributed to another cause (drift-selection).

*Abnormal segregations*

A number of well-known loci have been reported to occasionally display aberrant segregations. This was recently observed for restriction fragment length polymorphism markers by McCouch et al. (1988), not only in *ssp. indica* × *ssp. japonica* progeny but also in *ssp. japonica* × *ssp. japonica* crosses. Various models have been proposed to explain aberrant segregations in rice, involving both gametophytic and sporophytic selection mechanisms (Ikehashi 1982; Oka 1983). In particular, the *wx* locus is frequently subject to segregation distortion as a result of its linkage with certation genes (Iwata et al. 1964; Nakagahra et al. 1974) on chromosome 3, where *Pgi-2*, *Est-2*, and *Amp-3* are also located. F<sub>2</sub> or BC<sub>1</sub> data are not sufficient to determine the cause of the distortions reported here (Table 6). However, several comments can be made from our results, keeping in mind that the number of plants studied and, therefore, the power of the test for detection of distortion were not the same in every progeny. (i) Abnor-

mal segregations are more likely in crosses between subspecies than within subspecies, since only 2 of the 11 crosses where distortions were observed are, *sensu stricto*, within the same subspecies. (ii) Eighteen loci are affected, which are distributed on at least seven chromosomes (Table 5); thus, a large portion of the genome is involved. (iii) The deviations from Mendelian ratios result from gametic selection rather than from zygotic selection and the alteration of allelic frequencies in the pool of F<sub>1</sub> gametes is the major source of segregation distortions.

Cosegregations were observed between *Est-2* and both locus *Acp-1* and locus *Sdh-1*, located on chromosomes 3 and 6, respectively. This was observed in the cross between subspecies (*japonica* × *indica*) ES70-6 × SS404 and displaying strongly distorted monolocus segregations. Such pseudolinkage between independent genes was observed by Oka (1956, 1983), who explained it by their linkage with duplicate gametic development genes, whose recombination produces disadvantaged gametes. In particular, this was noted between the loci *Rc* (red pericarp) and *wx*. The latter locus is linked to *Est-2*. This suggests that the same causal mechanism could be involved.

Occurrence of such restrictions to recombination leads one to suspect the validity of the weak linkages noted above. These linkages are all the more doubtful since they were estimated from crosses between different varietal groups and concern loci strongly involved in the discrimination between these groups.

**Acknowledgements**

The late Dr. Pernès provided us with valuable suggestions. We are very grateful to Dr. Charrier and to Dr. Morishima for their helpful comments on the manuscript. We thank

- Dr. Ranade for his help in correcting the English. We also thank MM. Boka Clément and Guela Bledy Félix for their technical assistance in the ORSTOM laboratory. The research conducted in the Ivory Coast was supported by a portion of a grant from the Commission of the European Communities (TSDA 103-F).
- ALLARD, R.W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia*, 24: 235-278.
- DE KOCHKO, A. 1987. Isozymic variability of traditional rice (*Oryza sativa* L.) in Africa. *Theor. Appl. Genet.* 73: 675-682.
- GHESEQUIÈRE, A., and SECOND, G. 1983. Polymorphisme enzymatique et évolution d'*O. sativa* en Afrique. In *Colloque électrophorèse et taxonomie*. Société Zoologique de France, Paris. pp. 263-272.
- GLASZMANN, J.C. 1987. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *Theor. Appl. Genet.* 74: 21-30.
- GLASZMANN, J.C., BENOIT, H., and ARNAUD, M. 1984. Classification des riz cultivés (*Oryza sativa* L.). Utilisation de la variabilité isoenzymatique. *Agron. Trop.* 39: 51-66.
- IKEHASHI, H. 1982. Prospects for overcoming barriers in the utilisation of *indica-japonica* crosses in rice breeding. *Oryza*, 19: 69-77.
- INOUE, J., and HAGIWARA, T. 1980. Classification of floating rice varieties by acid phosphatases and peroxidase zymograms. *Jpn. J. Trop. Agric.* 24: 159-164.
- ISHIKAWA, R., KINOSHITA, T., and MORISHIMA, H. 1986. Trisomic analysis of genes for isozymes: location of *Cat-1*, *Acp-1* and *Pox-2* on chromosomes. *Rice Genet. Newsl.* 4: 75-76.
- IWATA, N., NAGAMATSU, T., and OMURA, T. 1964. Abnormal segregation of waxy and apiculus coloration by a gametophyte gene belonging to the first linkage group in rice. *Jpn. J. Breed.* 14: 33-39. (In Japanese with English summary.)
- KHUSH, G.S., SINGH, R.J., SUR, S.C., and LIBROJO, A.L. 1984. Primary trisomics of rice: origin, morphology, cytology and use in linkage mapping. *Genetics*, 107: 141-163.
- KINOSHITA, T. 1984. Gene analysis and linkage map. In *Biology of rice*. Edited by S. Tsunoda and N. Takahashi. Japan Scientific Societies Press, Tokyo; Elsevier, Amsterdam. pp. 187-274.
- MCCOUCH, S.R., KOCHERT, G., YU, Z.H., WANG, Z.Y., KHUSH, G.S., COFFMAN, W.R., and TANKSLEY, S.D. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 76: 815-829.
- MORISHIMA, H., and GLASZMANN, J.C. 1986. Gene symbols for isozymes. *Rice Genet. Newsl.* 3: 15-17.
- MORISHIMA, H., and SANO, Y. 1984. Genetic analysis for isozymes in rice. *Rice Genet. Newsl.* 1: 117-118.
- NAKAGAHRA, M., and HAYASHI, K. 1976. Detection of esterase isozyme loci of *O. sativa* L. *Jpn. J. Breed.* 26: (Suppl. 1): 114-115. (In Japanese.)
- NAKAGAHRA, M., OMURA, T., and IWATA, N. 1974. New certainty gene on the first linkage group found by inter-subspecific hybridization of cultivated rice. *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.* 18: 157-167.
- OKA, H.I. 1953. Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. IX. Influence of intervarietal hybrid sterility on segregation ratios in rice. *Jpn. J. Breed.* 3: 31-39. (In Japanese with English summary.)
- \_\_\_\_\_. 1956. Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. XI. Restriction on gene recombination in hybrid populations of rice. *Jpn. J. Breed.* 6: 185-191.
- \_\_\_\_\_. 1958. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 18: 79-89.
- \_\_\_\_\_. 1983. The *indica-japonica* differentiation of rice cultivars. A review. In *Crop improvement research*. Edited by T.C. Yap, K.M. Graham, and J. Sukaimi. Proceedings of the 4th International SABRAO Congress, SABRAO. pp. 117-128.
- PAI, C., and FU, P.Y. 1977. Genetic analysis for peroxidase and acid phosphatase isozymes in cultivated rice. *Agronomy Bulletin, National Chungshing University, Taichung*, 2: 75-85. (In Chinese with English summary.)
- PAI, C., ENDO, T., and OKA, H.I. 1973. Genic analysis for peroxidase isozymes and their organ specificity in *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 15: 845-853.
- \_\_\_\_\_. 1975. Genic analysis for acid phosphatase isozymes in *Oryza perennis* and *O. sativa*. *Can. J. Genet. Cytol.* 17: 637-650.
- RANJHAN, S., GLASZMANN, J.C., RAMIREZ, D., and KHUSH, G.S. 1988. Chromosomal location of four isozyme loci by trisomic analysis in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 75: 541-545.
- SANO, R., and BARBIER, P. 1985. Analysis of five isozyme genes and chromosomal location for *Amp-1*. *Rice Genet. Newsl.* 2: 60-62.
- SECOND, G. 1982. Origin of the genetic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp.): study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. *Jpn. J. Genet.* 57: 25-57.
- \_\_\_\_\_. 1985. Evolutionary relationships in the *Sativa* group of *Oryza* based on isozyme polymorphism. *Genet. Sel. Evol.* 17: 89-114.
- SECOND, G., and MORISHIMA, H. 1981. Mendelian segregation analysis at 3 isozyme loci in rice cultivars. Annual report, 1980. National Institute of Genetics, Misima. pp. 117-118.
- SECOND, G., and TROUSLOT, P. 1980. Polymorphisme de 13 zymogrammes observés parmi diverses espèces sauvages et cultivées du genre *Oryza*. In *Electrophorèse d'enzymes de riz*. Trav. Doc. ORSTOM, 120.
- SHAHI, B.B., MORISHIMA, H., and OKA, H.I. 1969. A survey of variations in peroxidase, acid phosphatase and esterase isozymes of wild and cultivated *Oryza* species. *Jpn. J. Genet.* 44: 303-319.
- TROUSLOT, P., and SECOND, G. 1980. Technique d'électrophorèse en gel d'amidon appliquée à l'étude du polymorphisme de 14 enzymes de riz. In *Electrophorèse d'enzymes de riz*. Trav. Doc. ORSTOM, 120.
- WU, K.S., GLASZMANN, J.C., and KHUSH, G.S. 1988. Chromosomal location of ten isozyme loci in rice (*Oryza sativa* L.) through trisomic analysis. *Biochem. Genet.* 26: 303-320.

Douze variétés de l'espèce de riz cultivée *Oryza sativa* ont été choisies pour représenter significativement sa diversité isoenzymatique en Afrique. L'analyse de la fertilité des hybrides issus des croisements entre ces variétés permet de retrouver la classification en sous-espèces *indica* et *japonica* obtenue à partir du polymorphisme enzymatique. De nombreuses distorsions de ségrégation sont observées dans les descendances. La confrontation entre les génotypes *O. sativa* et l'autre espèce cultivée *O. glaberrima* révèle une diversité originale d'*O. sativa*. Une sélection zygotique dépendant des génotypes *O. sativa* impliqués est ainsi mise en évidence dans les descendances interspécifiques. Des associations significatives entre marqueurs génétiques et caractères quantitatifs sont mises en évidence dans trois descendances F2 intra-*O. sativa*. L'importance du complexe de gènes associé au locus de la réaction au phénol est soulignée.

Ces résultats sont discutés par rapport à la gestion des ressources génétiques des riz cultivés.

#### **MOTS-CLÉS**

Riz - *Oryza sativa* - *Oryza glaberrima* - Ressources génétiques - Interspécifique - Barrières reproductives - Marqueurs génétiques - Isozymes - Caractères quantitatifs.

*Twelve African traditional cultivars that represent part of the isozyme variation within O. sativa on that continent were chosen.*

*The analysis of the fertility of hybrids obtained from crosses between these varieties was consistent with the classification into indica and japonica subspecies given by the analysis of isozyme polymorphism. Numerous abnormal segregations were observed in the progenies.*

*The crosses between O. sativa and the African cultivated species O. glaberrima revealed an original diversity of O. sativa. The observation of both isozyme markers and quantitative traits in three intra- O. sativa F2 progenies showed several significant associations.*

*The importance of the gene complex associated with the phenol reaction locus was underlined.*

*Finally, the results were discussed in relation to the management of genetic resources of cultivated rice.*

#### **KEY WORDS**

*Rice - Oryza sativa - Oryza glaberrima - Genetic resources - Interspecific crosses - Reproductive barriers - Genetic markers isozymes - Quantitative traits.*