

Ce n'est cependant pas l'organe le plus adapté aux buts poursuivis et, en particulier, à la mise au point de biotests. Les chercheurs ont déjà transposé leurs travaux sur les branchies mais ils se heurtent encore à des problèmes de reproductibilité des résultats. L'organe de choix reste la glande digestive, où sont localisés la plupart des systèmes de détoxication qui présentent des similitudes avec ceux du foie de mammifère. Un chercheur tente actuellement de développer ces modèles en collaboration avec Christiane Cugen-Guillouzo et Denise Glaise de l'Inserm U49 à Rennes. En outre, les applications en écotoxicologie devraient être développées prochainement par un chercheur sous contrat Cifre (Convention industrielle de formation pour la recherche), dans

le cadre d'une collaboration entre la société Bioprédic et l'Ubo.

Des applications en biotechnologies sont aussi envisagées : sécrétion de substances bioactives ou mise au point de tests de substances d'origine marine extraites des algues, par exemple. Mais ce programme a d'ores et déjà des retombées économiques certaines. La société Bioprédic crée une nouvelle unité qui assurera, dès le début de cette année, la production et la commercialisation de milieux de culture et de cellules congelées.

Monique GUÉGUEN\*

\* *Biofutur*, 141, rue de Javel, 75747 Paris cedex 15.

japonica, puis ceux caractérisant les haploïdes doublés (HD) obtenus par culture *in vitro* d'anthères prélevées sur des hybrides issus d'un croisement entre Azucena et la variété non parfumée IR-64, riz indica (1, 2). Ce croisement, réalisé à l'International Rice Research Institute (IRRI) aux Philippines, en collaboration avec le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad) de Montpellier, était une condition préalable pour pouvoir définir le déterminisme génétique du caractère « arôme ».

L'étude aromatique a été réalisée sur la fraction volatile des riz, extraite à partir des eaux de cuisson par extraction-distillation simultanées. L'analyse des fractions volatiles d'Azucena et de IR-64 a conduit à l'identification de 78 composés appartenant à des classes chimiques très variées. Une analyse factorielle discriminante (AFD) a permis d'identifier sans ambiguïté les composés, quantitativement, les plus caractéristiques du riz parfumé, en tenant compte des écarts types observés sur 12 extractions.

Il apparaît clairement que la 2-acétyl-1-pyrroline (AcPy) (voir figure) est le composé le plus discriminant entre la variété Azucena, où il est présent à raison de 24,2 ppb (24,2 µg/kg de riz cru), et la variété IR-64 dans laquelle il n'est pas détecté. Huit autres composés apparaissent également discriminants, quoique dans une moindre mesure : le pentanol, l'hexanol, le (E)-hept-2-énal, le benzaldéhyde, l'octanal, la pentadécane-2-one, la 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one et l'hexadécane-3-one.

L'AcPy, composé à l'odeur de *pop-corn*, était déjà mentionnée dans la littérature comme composé clé de l'arôme des riz parfumés (4, 5). L'étude de sa contribution à l'arôme du riz Azucena, par le calcul de son activité odorante (concentration dans l'extrait/seuil de détection olfactive), confirme ce résultat.

L'AFD a également permis de classer les individus HD sur la base des concentrations des neuf

## LE RIZ EST AU PARFUM

Les riz dits parfumés sont des variétés (*Oryza sativa*) qui, à la cuisson, produisent un arôme plus puissant que les variétés communes. Ces riz sont de plus en plus appréciés en Europe où leur place sur le marché rizicole ne cesse de croître. Ainsi, en France, la consommation de riz parfumés est passée de 405 tonnes en 1989 à 11 875 tonnes en 1994. Ces variétés sont toutes importées des pays asiatiques, les plus consommées en Europe étant le basmati, importé du Pakistan et de l'Inde (Punjab), et le Thaï, originaire de Thaïlande. Le prix des riz parfumés à l'exportation est le plus élevé du marché : 530 à 750 dollars (2 568 à 3 635 francs) la tonne contre 270 à 350 dollars pour les variétés non aromatiques.

Les programmes d'amélioration variétale prennent en considération non seulement les caracté-

ristiques agronomiques et agrophysiologiques du riz directement liées à la production, mais aussi des caractéristiques liées à certaines qualités du grain de riz, comme le comportement à l'usinage – il définit le rendement riz blanchi sur riz paddy (riz non décortiqué) –, la présentation à la vente (format, translucidité et couleur du grain), la rapidité de cuisson et la perception en bouche (texture et arôme).

### À la pêche aux arômes

Alors qu'en Europe, les recherches portant sur les qualités sensorielles du riz ont jusqu'à présent été focalisées sur la texture du grain, il apparaît désormais nécessaire de s'intéresser à ses qualités aromatiques. Avec deux objectifs : d'une part, parvenir à contrôler la qualité aromatique des riz importés et déceler les éventuelles fraudes – il n'existe actuellement aucun contrôle douanier qui permettrait de vérifier les qualités organoleptiques du riz vendu sous l'appellation « parfumé » – et, d'autre part, améliorer la qualité aromatique des riz parfumés cultivables ou cultivés en Asie, ainsi que celle des riz longs non parfumés pouvant être cultivés sous nos climats. Cela pourrait aboutir à une production exportable sur les marchés porteurs. C'est ainsi que des chercheurs du laboratoire Arôme de l'École nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires (Ensiaa) se sont attachés à identifier les composés aromatiques caractérisant la fraction volatile de la variété parfumée Azucena, riz

(1) E Guiderdoni *et al* (1992) Anther culture of tropical japonica x indica hybrids of rice (*Oryza sativa* L). *Euphytica* 62, 219-224.

(2) A Bonjean (1995) L'orge revisitée. *Biofutur* 147, 28-32.

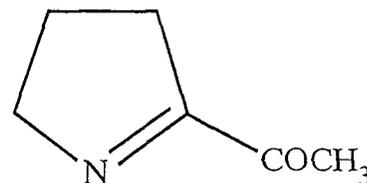
(3) Selon la nouvelle nomenclature utilisée en chimie organique, le numéro d'un carbone portant un radical se met avant celui-ci. Le trans 2-heptanal s'écrit donc (E)-hept-2-énal, la 2-pentadécane s'écrit pentadécane-2-one...

(4) RG Buttery & LC Ling (1982) 2-Acetyl-1-pyrroline: an important aroma component of cooked rice. *Chem Ind (Lond)* 958 (??)

(5) RG Buttery *et al* (1988) Contribution of volatiles to rice aroma. *J Agric Food Chem* 36, 1006-1009.

### MOLÉCULE DE 2-ACÉTYL-1-PYRROLINE

Pic 18





Repiquage du riz en pépinière au Cambodge.

composés discriminants. La grande majorité d'entre eux se situe près du parent non parfumé (70 individus non parfumés sur 90 HD analysés).

### Déterminisme génétique de l'arôme

Diverses équipes de chercheurs, principalement indiennes, se sont déjà intéressées à l'étude de l'hérédité du caractère arôme dans ce type de riz. Toute une panoplie de variétés de riz provenant des marchés locaux a ainsi été utilisée lors des croisements entre riz parfumés et riz non parfumés. L'homme est ici seul juge pour estimer la qualité aromatique des individus issus des croisements. Cette évaluation se fait par inhalation de l'arôme qui se dégage de feuilles placées dans une solution de potasse à 1.7 % ou chauffées dans un tube à 40-45 °C, et par mastication des grains de riz cru. Selon les croisements, il est apparu que le caractère arôme semblait être contrôlé par un gène récessif (6, 7), par deux gènes (8) ou par trois gènes dominants complémentaires (9, 10). Ces conclusions apparemment contradictoires reflètent non seulement la diversité des variétés parfumées étudiées mais aussi le manque de précision des méthodes de mesure de l'arôme.

L'analyse du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction de l'ADN (RFLP) défini chez les parents, permet d'étudier précisément le déterminisme génétique du caractère arôme. C'est ainsi que 135 marqueurs RFLP ont été cartographiés sur les 12 chromosomes du riz à l'aide des descendants du croisement IR-64 x

Azucena (11). L'analyse QTL (*quantitative trait loci*), basée sur une approche par intervalles (les marqueurs sont considérés deux par deux) (12), a ensuite révélé la présence d'un important locus correspondant à l'AcPy sur le chromosome 8. La présence d'un seul QTL et l'observation d'une distribution bimodale de l'AcPy dans la population HD font penser à un caractère monogénique qui peut donc être cartographié comme un marqueur RFLP. Il est ainsi possible de définir plus précisément les marqueurs RFLP étroitement liés au gène intervenant dans la synthèse de l'AcPy.

### Vers de nouvelles variétés

Une des applications directes de la découverte d'un tel locus est l'aide à la sélection dans la création de nouvelles variétés de riz aromatiques, objectif qui intéresse particulièrement les riziculteurs de Camargue.

L'obtention d'un marqueur moléculaire étroitement lié au gène codant pour l'AcPy devrait permettre d'accélérer son transfert par rétrocroisement (*back-cross*). Si l'on dispose d'un marqueur à un centimorgan du gène à transférer, on arrive, avec peu de générations, à limiter au maximum la zone introgressée au gène d'intérêt, alors que la sélection classique nécessite au moins une centaine de générations pour le même résultat (13). C'est ainsi qu'une saturation de la carte du riz, dans la région chromosomique qui a été déterminée, est actuellement en cours à l'Orstom afin de

sélectionner des marqueurs plus étroitement liés au gène AcPy.

Restera alors à adapter les résultats ainsi obtenus aux exigences des programmes de sélection mis en place en Camargue. Les croisements effectués devront être judicieusement choisis en fonction des sous-espèces impliquées (*indica* ou *japonica*) et des qualités agronomiques ou culinaires requises. Il faudra auparavant vérifier que le gène identifié chez Azucena se retrouve dans d'autres variétés parfumées et que le (ou les) marqueur(s) RFLP sélectionné(s) est (sont) universel(s) pour le caractère arôme.

Marina PETROV\* et Mathias LORIEUX\*\*

\* Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad), Laboratoire de technologie des céréales, Maison de la technologie, BP 5035, 34032 Montpellier cedex 1.

\*\* Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (Orstom), Laboratoire des ressources génétiques et d'amélioration des plantes tropicales, BP 5045, 34032 Montpellier cedex 1.

### REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier MM Marc Danzart et Hubert Richard (Ensiia), et Jacques Faure (Cirad) pour leurs précieux conseils.

(6) SS Ali *et al* (1993) Inheritance study for aroma in two aromatic varieties of Pakistan. *IRRV* 18, 6.

(7) DK Berner & BJ Hoff (1986) Inheritance of scent in American long grain rice. *Crop Sci* 26, 876-878.

(8) RS Tripathi & MJ Rao (1979) Inheritance and linkage relationship of scent in rice. *Euphytica* 28, 319-323.

(9) M Nagaraju *et al* (1975) A simple technique to identify scent in rice and inheritance pattern of scent. *Curr Sci (Bangalore)* 44, 599.

(10) PR Reddy & K Sathyanarayanaiah (1980) Inheritance of aroma in rice. *Indian J Genet & Plant Breed* 40, 327-329.

(11) N Huang *et al* (1994) Development of an RFLP map from doubled haploid population in rice. *Rice Genetic News letter* 11, 134-137.

(12) ES Lander & D Bolstein (1989) Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121, 185-199.

(13) ND Young & SD Tanksley (1989) RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the Tn2 locus of tomato during back-cross breeding. *Theor Appl Genet* 77, 353-359.