

ORSTOM

INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION
U.R. BASES BIOLOGIQUES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES TROPICALES

EVOLUTION DE LA DIVERSITE ET DE L'ALLOGAMIE DANS UNE POPULATION
ARTIFICIELLE D'HYBRIDES ENTRE LE RIZ CULTIVE ORYZA SATIVA L. ET
L'ESPECE SAUVAGE O. LONGISTAMINATA A. CHEV. & RÖHR.

Mathilde Causse

05 SEP. 1989

ORSTOM Fonds Documentaire
N° : 26.672.2x2
Cote : A

TDM 58

ORSTOM

Editions de l'ORSTOM

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

Collection :

Travaux et documents microédités

PARIS 1989

ISBN 2-7099-0969-3

© ORSTOM

« 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
« 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'illustra-
« tion, «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

F4



INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION
U.R. BASES BIOLOGIQUES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES TROPICALES

**EVOLUTION DE LA DIVERSITE ET DE L'ALLOGAMIE DANS UNE POPULATION
ARTIFICIELLE D'HYBRIDES ENTRE LE RIZ CULTIVE ORYZA SATIVA L. ET
L'ESPECE SAUVAGE O. LONGISTAMINATA A. CHEV. & ROHR.**

Mathilde Causse

Cette étude a fait l'objet d'une thèse présentée à l'Université de PARIS-SUD, Centre d'ORSAY, pour obtenir le titre de Docteur en Sciences, soutenue le 20 Mars 1989, devant la commission d'examen : Pr. A. GALLAIS, Dr. A. CHARRIER, Pr. P.H. GOUYON, Pr. A. SARR et Dr. A. GHESQUIERE.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Génétique et Amélioration des Plantes Tropicales du centre O.R.S.T.O.M. d'Adiopodoumé en Côte d'Ivoire.

Je tiens à remercier M. PERNES, qui m'a initiée à la Génétique des Plantes à l'Université d'Orsay, et m'a guidée dans la définition de mon programme de recherche.

J'exprime toute ma gratitude et ma reconnaissance à M. GALLAIS pour ses précieux conseils et pour avoir accepté de présider mon jury de thèse.

M. GHESQUIERE m'a encadrée et conseillée tout au long de mon séjour en Côte d'Ivoire, et m'a fait partager sa connaissance de la génétique du riz. Je tiens à le remercier vivement de sa patience et de sa disponibilité, tant dans la conduite des expérimentations que lors de la discussion des résultats.

Je suis particulièrement reconnaissante à M. CHARRIER qui m'a permis d'effectuer ces recherches à l'O.R.S.T.O.M. et a accepté d'être rapporteur de ce travail. Ses suggestions m'ont été précieuses pour la rédaction de ce mémoire.

Que M. GOUYON, qui a également accepté d'être rapporteur, et M. SARR, qui a bien voulu siéger dans mon jury de thèse, reçoivent ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

Je remercie les chercheurs du Laboratoire de Génétique d'Adiopodoumé, MM. ASSIENAN, BEZANCON, de KOCHKO, HAMON, LE PIERRES, NOIROT et PHAM, pour leur accueil chaleureux.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans la collaboration de MM. COULIBALY, FON et ZAGBRE, ni sans l'aide technique de MM. BOKA et GUELA BLEDY. Qu'ils trouvent ici toute ma gratitude.

Enfin, je remercie tous ceux qui m'ont soutenue par leur amitié ou leur affection.

RESUME

Ce travail s'inscrit dans un vaste programme de recherche, initié en 1974 par l'ORSTOM et l'IRAT, portant sur les ressources génétiques du riz en Afrique.

Ce programme comprend 3 volets:

- prospections de variétés cultivées et d'espèces sauvages africaines;
- évaluation du polymorphisme de ce matériel, et étude des relations entre les espèces;
- définition de stratégies d'exploitation et de conservation des ressources génétiques du riz.

Notre programme s'insère au niveau du troisième axe de ce projet, et concerne l'étude des possibilités d'utilisation de l'espèce sauvage *Oryza longistaminata* A. Chev. et Roehr., par hybridation avec *O. sativa* L., en vue de l'amélioration du riz cultivé.

O. longistaminata est une espèce strictement africaine, caractérisée par son mode de reproduction allogame et sa forte pérennité due à l'émission de vigoureux rhizomes. L'étude du polymorphisme enzymatique a révélé, chez cette espèce, une très grande diversité génétique. Elle est isolée des autres espèces du groupe *Sativa* par une forte barrière reproductive. L'existence d'hybridations spontanées avec le riz cultivé a cependant été mise en évidence à l'issue de prospections de matériel sauvage en conditions adventices : les formes hybrides obtenues, dépourvues de rhizomes, sont nommées plantes *Obake*. Ayant naturellement surmonté la barrière reproductive, ces plantes constituent un matériel intéressant pour envisager l'exploitation de la diversité générée par hybridation interspécifique entre *O. longistaminata* et *O. sativa*.

Originnaire d'Asie, *O. sativa* est la principale espèce de riz cultivée. Sur la base de nombreuses différences morpho-physiologiques, on distingue deux sous-espèces, *indica* et *japonica*. L'exploitation de la complémentarité de ces deux sous-espèces, par hybridation, se heurte à l'action de plusieurs systèmes génétiques qui assurent leur isolement et limitent les recombinaisons : leur action entraîne des phénomènes de stérilité, de certation et parfois de faiblesse chez les hybrides F1 et leurs descendants.

L'utilisation d'*O. longistaminata* a été envisagée suivant un double objectif :

- créer une population d'hybrides interspécifiques fortement diversifiée;
- exploiter les caractéristiques florales d'*O. longistaminata* pour favoriser l'intercroisement entre plantes de fertilités variables et, par le jeu du brassage, améliorer les recombinaisons entre les structures génomiques *indica* et *japonica*.

Nous avons créé une population à large base génétique par hybridation entre une plante *Obake* (hybride naturel entre *O. longistaminata* et une variété *indica* d'*O. sativa*) et dix variétés de riz pluvial (*O. sativa* ssp. *japonica*). Le comportement des hybrides a été observé deux générations durant au cours d'essais en plein champ. A chaque génération, la description morphologique des plantes est réalisée. Par ailleurs, l'électrophorèse d'enzymes permet de suivre l'évolution des recombinaisons au cours des générations et d'estimer l'importance de l'allopollinisation à chaque essai.

En première génération, les plantes présentent une importante diversité morphologique, mais sont fortement marquées par certains traits de l'espèce sauvage : elles se caractérisent notamment par un tallage très abondant, associé à l'émission de ramifications aériennes, qui conduisent à une floraison prolongée. Les panicules, généralement longues, sont peu ramifiées, mais très aristées et fréquemment pigmentées. La comparaison morphologique des hybrides de première et de deuxième génération révèle une fréquence plus faible des caractéristiques sauvages en seconde génération, une réduction de la pérennité, et une modification des structures paniculaires. Cette évolution spontanée vers un phénotype plus cultivé en deuxième génération s'accompagne d'une amélioration de la fertilité.

La fertilité moyenne des hybrides de première génération est très faible, mais présente une grande variabilité. A chaque génération, seules quelques plantes fertiles sont à l'origine du nuage pollinique. Si la fertilité des plantes s'améliore en deuxième génération, le niveau moyen demeure peu élevé (la fertilité pollinique moyenne passe de 18% en première génération à 37% à la génération suivante).

Les estimations du taux d'intercroisement, dans cette population laissée en fécondation libre durant deux générations, révèlent qu'il est possible de réaliser des opérations de brassage naturel, à grande échelle, malgré un niveau de fertilité initial très faible. Ainsi, dans le premier essai, 75% des graines sont issues d'allopollinisation. Ce taux ne concerne que 35% des graines en deuxième génération.

En première génération, le brassage entre les familles est favorisé par l'étalement de la floraison, du fait de l'abondant tallage des plantes. En seconde génération, la floraison est plus groupée pour chaque individu, mais les différences de précocité entre familles sont atténuées en raison de l'accroissement de la variabilité intra-famille.

On met en évidence, par ailleurs, une liaison nette entre le taux d'autofécondation et la fertilité : d'une part les individus ayant une fertilité pollinique supérieure à 40% s'autofécondent préférentiellement, d'autre part le taux moyen d'intercroisement régresse au cours des générations, parallèlement à la restauration de la fertilité globale. Le taux d'intercroisement dépend également de la longueur et de l'exertion des stigmates.

On observe un certain nombre de perturbations dans les premières générations (défauts de germination, faiblesse, anomalies morphogénétiques), dont l'origine est recherchée au niveau de disfonctionnements génétiques, au niveau du fardeau génétique d'*O. longistaminata*, ou de remaniements chromosomiques provoqués par l'hybridation interspécifique.

Un troisième essai, composé de vingt descendances en autofécondation des plantes jugées les plus fertiles en seconde génération, a été mis en place afin d'estimer l'intérêt et les possibilités d'exploiter ce matériel introgressé. Ces descendances fournissent un certain nombre de résultats favorables à l'exploitation de ces plantes en vue de l'amélioration du riz:

- il apparaît possible de restaurer rapidement la fertilité des plantes;
- la comparaison des descendances à quatre témoins révèle l'existence de lignées en moyenne supérieures aux variétés parentales, des transgressions étant observées notamment pour les caractéristiques de croissance précoce, le tallage et la densité des panicules.
- l'impact des perturbations induites par l'hybridation interspécifique régresse en troisième génération, consécutivement à la restauration de la fertilité;
- les caractéristiques de l'espèce sauvage (caducité des grains, aristation, pigmentation) présentent des ségrégations complexes, mais ne sont pas rédhibitoires;
- les fortes valeurs des régressions entre les parents et leurs descendances justifient de porter une attention particulière au choix des plantes.

Les recombinaisons intergénomiques sont étudiées à un double niveau : entre les génomes d'*O. longistaminata* et d'*O. sativa* ; entre les génomes des deux sous-espèces d'*O. sativa* , pour estimer le rôle de l'espèce sauvage comme pivot entre les types *indica* et *japonica*. L'étude repose sur le suivi de marqueurs isozymiques, permettant une bonne distinction des 3 génomes confrontés.

La réaction des glumelles au phénol, à déterminisme génétique simple, est également caractéristique de la séparation des types *indica* et *japonica*, les variétés *japonica* présentant une réaction négative, contrairement aux variétés *indica* et à *O. longistaminata*. Enfin, l'étude des associations de marqueurs indépendants, électrophorétiques ou morphologiques, renseigne sur les limitations à la recombinaison.

L'évolution spontanée vers un phénotype cultivé, observée en seconde génération, se retrouve au niveau de l'évolution des marqueurs isozymiques. Le suivi des fréquences alléliques de 9 marqueurs enzymatiques montre une perte en électromorphes de l'espèce sauvage. Ces distorsions, peu significatives en première génération, s'accroissent en deuxième génération pour 4 marqueurs, elles concernent toutes les familles et apparaissent indépendantes d'un locus à l'autre. Dans les descendance en autofécondation de troisième génération, les pertes s'atténuent.

Si la fertilité n'apparaît pas liée aux génotypes enzymatiques lorsque les marqueurs sont étudiés individuellement, les scores en allèles sauvages, pour plusieurs loci, montrent une meilleure fertilité associée au type cultivé. D'autre part, les formules discriminant les structures sauvages et cultivées, basées sur des associations de caractères morphologiques, n'apparaissent liées à la fertilité qu'en troisième génération, les types les plus cultivés étant également les plus fertiles.

On ne met pas en évidence de distorsion des fréquences alléliques entre les électromorphes *indica* et *japonica*, et il est possible d'obtenir des associations alléliques rarement observées chez les variétés cultivées. Ces résultats suggèrent une bonne recombinaison entre les deux sous-espèces d'*O. sativa* et militent en faveur du rôle du génome sauvage comme pivot entre ces deux types.

En revanche, dès la deuxième génération, une association est mise en évidence entre la réaction au phénol des individus et différents caractères morphologiques : les plantes à réaction négative présentent un retour plus marqué vers le type *japonica*, des fréquences plus faibles des caractéristiques sauvages ainsi qu'une fertilité supérieure. Cette cohésion apparente entre la réaction au phénol et différents caractères indépendants traduit l'existence de restrictions de recombinaisons. Néanmoins, une importante variabilité est conservée au sein du groupe de plantes dont la réaction au phénol est négative.

L'utilisation d'*O. longistaminata* comme pont entre les sous-espèces *indica* et *japonica* permet, par le jeu des intercroisements, d'éviter un retour rapide vers l'un des deux types parentaux, comme il est fréquemment observé dans les descendance de croisements directs. Il paraît cependant nécessaire de préciser l'influence des facteurs limitant les recombinaisons, dans un tel système, par l'étude de générations avancées. Les descendance en autofécondation de troisième génération

possèdent des structures génomiques variées et constituent un matériel de départ intéressant pour poursuivre l'étude des ségrégations de caractères morphologiques ou de marqueurs enzymatiques discriminants. Une autre démarche consiste à tester le comportement de descendants fertiles, en croisement avec chacune des sous-espèces d'*O. sativa*, afin d'analyser le déterminisme de la barrière reproductive entre les deux sous-espèces, et de rechercher d'éventuels génotypes à large compatibilité hybride parmi les hybrides interspécifiques.

O. longistaminata s'est révélé une source de variabilité nouvelle, intéressante en vue de l'amélioration du riz. Bien qu'une part de la diversité soit inexploitable, la sélection peut s'avérer efficace pour fournir rapidement des plantes fertiles, introgressées et présentant des caractéristiques attractives dans un schéma de création variétale traditionnel. Les pertes spontanées d'allèles de l'espèce sauvage, ainsi que les associations préférentielles de caractères observées, si elles limitent les recombinaisons intergénomiques, accéléreront le retour vers un phénotype cultivé. Toutefois, une exploitation directe en sélection généalogique, par sélection de matériel reconduit en autofécondation, risque de mener à fixer un certain nombre de gènes défavorables de l'espèce sauvage. Un schéma de type sélection récurrente, alternant brassage entre plantes sélectionnées et autofécondation, semble alors plus approprié, dans un premier temps. Les modalités d'un tel schéma sont discutées, suivant l'échéance et les objectifs envisagés.

RESUME

Les possibilités d'utilisation de l'espèce sauvage et allogame *Oryza longistaminata*, en vue de l'amélioration du riz cultivé, sont étudiées.

Une population d'hybrides interspécifiques, composée de descendants de croisements entre une plante *Obake* (hybride spontané entre *O. longistaminata* et une forme *indica* d'*O. sativa*) et dix variétés de riz pluvial *japonica*, a été reconduite durant deux générations en fécondation libre, et étudiée au travers de marqueurs morphologiques et isozymiques. Les modalités d'exploitation de la diversité générée par ce type de croisement, et les possibilités de restauration rapide de la fertilité ont été estimées au cours d'un troisième essai comprenant vingt descendances en autofécondation.

L'introggression d'*O. sativa* par *O. longistaminata* permet de réaliser des opérations de brassage naturel à grande échelle. Le taux d'intercroisement, dépendant de la fertilité pollinique des plantes et de leur structure florale, régresse au cours des générations, consécutivement à l'amélioration de la fertilité globale.

Ce type d'hybridation induit une importante variabilité morphologique, qu'il est possible, et intéressant, d'exploiter en vue de l'amélioration du riz. Si la première génération est profondément marquée par certaines caractéristiques de l'espèce sauvage, une perte importante d'allèles de cette espèce, mise en évidence en seconde génération, s'est traduite par une évolution spontanée vers un phénotype plus cultivé.

L'utilisation d'*O. longistaminata* comme pivot entre les deux sous-espèces *indica* et *japonica* se révèle efficace au niveau isozymique pour améliorer les recombinaisons entre les deux génomes. Cependant, certaines associations de caractères morphologiques, discriminants les deux types, viennent atténuer la portée de ce résultat.

Après avoir discuté l'intérêt et les limites de l'utilisation de l'espèce sauvage *O. longistaminata*, en tant que source de variabilité d'une part, et comme pivot entre les formes *indica* et *japonica* d'autre part, les méthodes permettant de gérer au mieux les recombinaisons intergénomiques, dans un tel système, sont envisagées.

Mots clés : Riz - *Oryza sativa* - *Oryza longistaminata* - Allogamie - Recombinaison -
Hybridation interspécifique - Isozymes - Amélioration des plantes.

SUMMARY

Evolution of diversity and outcrossing in an artificial population of hybrids between the cultivated rice *Oryza sativa* L. and the wild species *O. longistaminata* A. Chev & Røhr.

The possible exploitation, for rice breeding, of wild and allogamous species *Oryza longistaminata* is studied.

A population of interspecific hybrids, including offsprings from crosses between an *Obake* plant (a spontaneous hybrid between *O. longistaminata* and an *indica* strain of *O. sativa*) and ten upland rice varieties (ssp. *japonica*), was renewed for two generations, in open pollination, and studied on morphological and electrophoretic levels. The main features for exploiting the diversity generated by this kind of hybridization, and the possibilities of rapidly restoring the fertility were estimated through a third experiment consisting of twenty lines issued from self fertilization.

The introgression of genes from *O. longistaminata* into *O. sativa* brings about natural intermingling operations on a wide scale. Outcrossing rate, depending on plant fertility and floral characteristics, decreases through generations, as a consequence of the improvement of global fertility.

This kind of hybridization generates an important morphological variability, which makes it feasible and interesting to use for rice breeding. If the first generation is strongly marked by some traits of the wild species, an important loss of electromorphs from this species, revealed in second generation, triggered a spontaneous evolution to a more cultivated phenotype.

The use of *O. longistaminata* as a bridge between the two subspecies *indica* and *japonica* is found efficient, on the isozymic level, to improve the recombinations between the two genomes. However, the existence of some associations of morphological traits discriminating the two types tempers this result.

After having discussed the interest and limits of using the wild species *O. longistaminata*, first as a source of variability and then as a bridge between *indica* and *japonica* types, the best methods of managing, in such a system, intergenomic recombinations are reviewed.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	17
PRESENTATION SYNTHETIQUE DE L'ORGANISATION GENETIQUE DES ESPECES ETUDIEES	23
A - Structure du groupe d'espèces <i>Sativa</i>	25
1. les espèces du groupe	25
2. relations évolutives	25
3. spécificité des types <i>indica</i> et <i>japonica</i>	27
4. originalité de la situation africaine	29
B - L'isolement entre les types <i>indica</i> et <i>japonica</i>	31
1. les différents phénomènes responsables de l'isolement	31
1.1. la stérilité des hybrides F1	31
1.2. la stérilité et les distorsions de ségrégation en F2	32
1.3. la faiblesse des hybrides	33
2. conséquences pour l'amélioration du riz	33
C - Présentation de l'espèce sauvage <i>O. longistaminata</i>	35
1. écologie et mode de reproduction	35
2. variabilité enzymatique et morphologique	35
3. relations avec les espèces autogames	37
3.1. mécanisme et déterminisme de la barrière reproductive	37
3.2. obtention d'hybrides contrôlés	37
3.3. les hybrides spontanés	37
3.4. introgression des caractères d'allogamie d' <i>O. longistaminata</i> chez <i>O. sativa</i>	41
MATERIEL ET METHODES	43
A - Le matériel végétal	45
1. les variétés de riz pluvial	45
2. la plante <i>Obake</i>	45
B - Méthodes	47
1. protocole expérimental	47
1.1. obtention des hybrides	47
1.2. observation des hybrides de première génération et des variétés parentales : essai G1	47
1.3. observation des hybrides de deuxième génération : essai G2	49
1.4. descendances en autofécondation : essai G3	51
1.5. itinéraires culturaux	51
2. les caractères étudiés	51
2.1. pigmentation et aristation	53
2.2. caractères liés au développement végétatif	53
2.3. tallage et floraison	53
2.4. architecture paniculaire et fertilité	53
2.5. la réaction des glumelles au phénol	55
2.6. le format des grains	55
2.7. les caractères d'allogamie	55
2.8. le test d'aptitude au bouturage	55

3. l'électrophorèse enzymatique	57
4. analyses statistiques	59
5. l'estimation du taux d'intercroisement	59
5.1. les estimations locus par locus	59
5.2. les estimations multilocus	61
5.3. test d'hétérogénéité des estimations	61
RESULTATS	63
1°) LES PARAMETRES DU BRASSAGE GENETIQUE: viabilité, fertilité et intercroisement	67
A - L'obtention des hybrides de première génération	67
1. la réussite des croisements	67
2. le génotype de la plante <i>Obake</i> vis à vis des gènes D1 et D2	69
3. structure génétique de la plante <i>Obake</i> et ses conséquences	70
B - Le développement végétatif des hybrides	71
1. la germination des graines	71
1.1. l'évolution des taux de germination au cours des générations	71
1.2. l'effet de dormance en G1	73
1.3. l'effet du génotype en G2	73
2. la vigueur végétative	75
2.1. le développement végétatif en G1	75
2.2. le développement végétatif précoce en G2	75
C - La fertilité des hybrides	77
1. la floraison	77
1.1. la précocité	77
1.2. l'étalement de la floraison	77
2. les composantes de la fertilité	79
2.1. la qualité de la floraison	79
2.2. la fertilité pollinique	79
2.3. la production de graines	81
2.4. relation entre la fertilité pollinique et la fertilité femelle	83
3. efficacité de la sélection précoce sur la fertilité	83
3.1. contribution des plantes G1 à la G2	83
3.2. comparaison de la fertilité des hybrides issus de SSD et de Bulk	85
3.3. la restauration de la fertilité en G3	85
D - Les taux d'intercroisement	89
1. le taux d'intercroisement en G1	89
1.1. les estimations locus par locus	89
1.2. les estimations multilocus	91
2. le taux d'intercroisement en G2	93
2.1. les estimations	93
2.2. relation entre le taux d'intercroisement et la fertilité des plantes	93
2.3. relation entre le taux d'intercroisement et la structure florale	95
3. l'importance de l'intercroisement en G3	95
Conclusion	97

2°) L'UTILISATION D'<i>O. LONGISTAMINATA</i> COMME SOURCE DE VARIABILITE DANS L'AMELIORATION DU RIZ	101
A - Importance du polymorphisme et évolution des types morphologiques	103
1. l'appareil végétatif	103
1.1. croissance et pérennité en G1 et G2	103
1.1.1. hauteur et port	103
1.1.2. tallage et pérennité	103
1.1.3. absence de rhizomes	105
1.2. développement végétatif des descendance G3	105
1.3. format de la feuille paniculaire	105
1.4. les marqueurs de pigmentation	107
2. l'architecture paniculaire	107
2.1. les structures paniculaires observées en G1 et G2	107
2.1.1. diversité des architectures	107
2.1.2. les anomalies paniculaires en G2	109
2.2. évolution des caractéristiques sauvages	109
2.2.1. l'égrenage	109
2.2.2. l'aristation	111
2.2.3. les autres caractéristiques sauvages	111
3. approche synthétique	113
3.1. évolution des corrélations au cours des générations	113
3.2. retour vers un phénotype cultivé en G2	115
B - organisation de la diversité : évolution des structures familiales	117
1. diversité des géniteurs	117
1.1. les variétés cultivées	117
1.2. plasticité de la plante <i>Obake</i>	117
2. organisation de la variabilité à chaque génération	119
2.1. diversité intra et interfamille	119
2.2. représentation comparée de la diversité intrafamiliale	119
2.3. comparaison des moyennes familiales à chaque génération	121
3. diversité des descendance G3	121
C - Transmission des caractères et efficacité de la sélection	123
1. importance du choix des géniteurs cultivés	123
1.1. relation entre les valeurs des parents et des descendants G1	123
1.2. relation entre les valeurs des parents et des descendants G2	125
1.3. relation entre les valeurs moyennes en G1 et G2	125
2. performance des descendance G3	125
3. comparaison de la diversité des plantes issues de Bulk et de SSD	127
Conclusion	128
3°) ROLE D'<i>O. LONGISTAMINATA</i> COMME GENOME PIVOT ENTRE LES TYPES <i>INDICA</i> ET <i>JAPONICA</i>	131
A - Les différentes approches méthodologiques	133
1. les marqueurs électrophorétiques	133
1.1. origine spécifique des électromorphes	133
1.2. étude des recombinaisons intergénomiques	134
2. la réaction au phénol	137
2.1. déterminisme génétique chez <i>O. sativa</i>	137
2.2. ségrégations observées	137

3. les caractères morphologiques	139
3.1. définition de types morphologiques à partir de témoins	139
3.1.1. matériel et méthodes	141
3.1.2. caractéristiques des groupes	141
3.2. définition de formules discriminantes à partir de combinaisons de caractères indépendants	143
B - Evolution des structures génétiques à travers les marqueurs enzymatiques	147
1. évolution des fréquences alléliques	147
1.1. ségrégation gamétique de la plante <i>Obake</i>	147
1.2. fréquences alléliques en G2	147
1.3. devenir des distorsions en G3	149
2. les relations entre loci	151
2.1. recherche de liaisons génétiques	151
2.2. comparaison à la situation chez <i>O. sativa</i>	153
2.3. les associations multilocus	154
2.3.1. la discrimination sauvage-cultivé	154
2.3.2. la discrimination <i>indica-japonica</i>	154
2.3.3. les associations multilocus en G3	154
C - Evolution des structures génétiques à travers les marqueurs morphologiques	157
1. la réaction au phénol comme critère discriminant	157
1.1. nouvelle approche du déterminisme de la réaction au phénol	157
1.2. comparaison des groupes définis sur la base de la réaction au phénol en G2	159
1.3. analyses discriminantes au sein de chaque famille	161
2. jugement des recombinaisons de caractères morphologiques	163
2.1. les associations de caractères en G2	163
2.2. les associations de caractères en G3	165
D - Concordance entre les approches basées sur le polymorphisme enzymatique et morphologique	169
1. influence des génotypes enzymatiques sur les caractères morphologiques et la fertilité	169
1.1. résultats de l'analyse en G1	169
1.2. relation entre les isozymes et les caractères morphologiques en G2	171
1.3. relation entre les isozymes et la fertilité en G2	173
2. relation entre les associations multialléliques et les différentes variables	173
2.1. influence de S _{Ce1} sur les caractères morphologiques en G1	173
2.2. influence des formules I _{Je} et S _{Ce} sur les caractères morphologiques en G2	173
2.3. relation entre les formules I _{Je} et S _{Ce} et la fertilité	175
3. concordance entre les formules discriminantes enzymatiques et morphologiques	175
Conclusion	177

DISCUSSION ET CONCLUSION GENERALE	179
A - Le marquage des génomes et le suivi des recombinaisons	182
B - Comment le brassage naturel influence-t-il les recombinaisons entre génomes <i>indica</i> et <i>japonica</i> ?	185
1. Les paramètres du brassage génétique	185
1.1. les paramètres biologiques influençant le brassage	185
1.2. les origines probables de la stérilité	186
2. les recombinaisons entre génomes <i>indica</i> et <i>japonica</i>	188
2.1. les distorsions de ségrégation	188
2.2. les associations de caractères morphologiques indépendants	189
C - Est-il possible et intéressant d'exploiter la diversité induite par hybridation interspécifique ?	190
1. Apport d' <i>O. longistaminata</i> pour la création variétale	190
2. Les recombinaisons entre génomes sauvage et cultivé	192
3. Modalités d'exploitation de la diversité	194
3.1. les perturbations induites par l'hybridation interspécifique	194
3.2. le syndrome de domestication	195
D - Perspectives pour la création variétale	197
1. Contraintes liées à la riziculture pluviale	197
2. Les méthodes de création variétale	198
Conclusion générale	201
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	 203
 ANNEXES	 217

INTRODUCTION

Ce travail, réalisé en Côte d'Ivoire, s'inscrit dans un programme de recherche initié en 1974 par l'ORSTOM et l'IRAT, concernant l'étude extensive des ressources génétiques des riz en Afrique. Il poursuit les recherches menées par GHESQUIERE (1988) sur l'espèce sauvage *Oryza longistaminata* A.Chev. & Roehr., et ses relations avec les riz cultivés et envisage un schéma original d'utilisation de cette espèce en hybridation avec la principale espèce cultivée *O. sativa* L.

O. sativa L., espèce annuelle et autogame, est subdivisée en deux sous-espèces, *indica* et *japonica*, domestiquées indépendamment en Asie (SECOND, 1982). A la suite de leur diffusion à travers le monde, des échanges génétiques entre ces deux sous-espèces ont eu lieu, favorisant la diversification des variétés.

En Afrique, cette structuration est conservée, et on observe une superposition des types génétiques et des conditions de culture, la riziculture irriguée exploitant la forme *indica*, tandis que les variétés *japonica* se rencontrent essentiellement en riziculture pluviale, caractéristique de l'Afrique de l'Ouest, où elles constituent un groupe de variétés peu diversifiées. Cette spécialisation s'accompagne de nombreuses différences morpho-physiologiques (pour revue, voir OKA, 1983).

L'exploitation de la complémentarité des sous-espèces *indica* et *japonica* en croisement se heurte à l'action de plusieurs systèmes génétiques qui assurent l'isolement et limitent les recombinaisons entre les deux types; leur action entraîne des phénomènes de stérilité, de certation et parfois de faiblesse. Le gain obtenu à partir de ces combinaisons a donc été plus faible qu'il n'était attendu. Actuellement, on observe un regain d'intérêt pour ces hybridations, l'accroissement des surfaces cultivées nécessitant la recherche d'adaptations nouvelles.

O. longistaminata, espèce sauvage, allogame et pérenne, émettant de vigoureux rhizomes, est largement répandue en Afrique intertropicale. Sa très grande diversité génétique, révélée au niveau isozymique, en fait un réservoir de variabilité du génome du groupe *Sativa* en Afrique (GHESQUIERE, 1988). Elle est isolée des autres espèces du groupe *Sativa* par une forte barrière reproductive. L'existence d'hybridations spontanées avec l'espèce cultivée a cependant été révélée à l'issue de prospections de matériel sauvage en conditions adventices : les formes hybrides obtenues, dépourvues de rhizomes ont été nommées plantes "Obake".

L'utilisation d'*O. longistaminata* pour l'amélioration du riz a rarement été envisagée, du fait des difficultés rencontrées pour surmonter la barrière reproductive. La culture *in vitro* d'embryons hybrides immatures a cependant permis le transfert de caractéristiques florales, responsables de son allogamie, chez *O. sativa* (TAILLEBOIS, 1983). Ayant naturellement surmonté la barrière reproductive, les plantes *Obake* constituent un matériel intéressant pour envisager l'exploitation à plus grande échelle de la diversité générée par hybridation interspécifique.

La migration d'*O. longistaminata* en Afrique, à partir d'un ancêtre asiatique, est antérieure à la domestication d'*O. sativa* (SECOND, 1985). Par la suite, en raison de son isolement reproductif, cette espèce est peu intervenue dans le processus de diversification des riz cultivés. Avec une allogamie et une pérennité extrêmes au sein du groupe *Sativa*, son hybridation avec *O. sativa* peut être à l'origine d'une variabilité nouvelle (GHESQUIERE, 1988).

Par l'introgression de ses caractéristiques florales chez *O. sativa*, TAILLEBOIS et GUIMARAES (1987) ont obtenu des taux d'allopollinisation élevés. L'exploitation des caractères responsables de cette allogamie a donc été envisagée afin d'optimiser les intercroisements entre plantes de fertilités variables, et en vue de favoriser les recombinaisons intergénomiques, notamment entre caractères des deux sous-espèces *indica* et *japonica*.

Pour cela, nous avons créé une population à large base génétique par hybridation entre une plante *Obake* (introgressée par une forme *indica* d'*O. sativa*) et plusieurs variétés de riz pluvial (*O. sativa*, *japonica*). Cette population artificielle a été laissée en fécondation libre. Le comportement des plantes a été observé deux générations durant au cours d'essais en plein champs; en seconde génération, l'effet de la sélection précoce sur la fertilité est étudié en comparant deux méthodes de reconduction des générations ("Single Seed Descent" et "Bulk Method").

Un troisième essai, comprenant quelques descendance en autofécondation des plantes les plus fertiles a été mis en place afin de tester les possibilités de restauration de la fertilité et de comparer la valeur agronomique de ces descendance à celle des variétés parentales.

A chaque génération, la description morphologique des plantes est réalisée. Par ailleurs, l'électrophorèse d'enzymes permet de suivre le devenir d'un certain nombre de marqueurs enzymatiques au cours des générations et d'estimer l'importance de l'allopollinisation à chaque essai.

Après avoir présenté les caractéristiques des deux espèces concernées dans cette étude et les différents facteurs responsables de leur isolement, nous décrivons le matériel végétal et les méthodes utilisées.

La présentation des résultats comprend 3 parties.

Nous présenterons dans un premier temps les paramètres biologiques ayant assuré le fonctionnement du système de brassage. En effet, la réalisation d'un tel système dépend étroitement de l'intensité de la floraison et de la fertilité des plantes, mais aussi de leur aptitude à l'intercroisement.

Dans un second chapitre, nous décrirons l'évolution de la diversité morphologique des hybrides. La variabilité générée par ce type de croisement sera présentée en s'intéressant particulièrement à l'évolution des caractéristiques de l'espèce sauvage dans la population. Bien que testée précocement et sur un effectif limité, la valeur agronomique des descendances en autofécondation permettra de juger l'intérêt d'une telle expérience du point de vue de l'amélioration du riz cultivé.

Enfin, nous tenterons d'évaluer l'importance des recombinaisons entre les trois génomes confrontés. Plusieurs approches sont envisagées :

- suivi de l'évolution des fréquences alléliques pour quelques marqueurs électrophorétiques;
- recherche d'associations de marqueurs isozymiques indépendants;
- étude des caractères morphologiques permettant la distinction des différents génomes, et analyse de leur évolution à partir de formules discriminantes.

Après avoir abordé les problèmes liés au marquage des génomes et au suivi des recombinaisons, la discussion sera orientée sur l'intérêt et les limites de l'utilisation de l'espèce sauvage *O. longistaminata* comme pivot entre les types *indica* et *japonica* d'une part, et en tant que source de variabilité d'autre part. Plusieurs perspectives seront envisagées, suivant deux orientations, création variétale stricte ou étude des structures génétiques.

**PRESENTATION SYNTHETIQUE DE
L'ORGANISATION GENETIQUE
DES ESPECES ETUDIEES**

Le genre *Oryza* comprend 18 espèces réparties en quatre groupes : *Sativa*, *Latifolia*, *Meyeriana* et *Ridleyi* (TATEOKA, 1963; CHANG, 1976a). Seuls les groupes *Sativa* et *Latifolia* ont une distribution pantropicale. Le groupe *Sativa* rassemble les deux espèces cultivées du genre *Oryza* et trois espèces sauvages. Elles sont toutes diploïdes ($2n = 24$) et caractérisées par un génome commun (génome AA).

A - Structure du groupe d'espèces *Sativa*

1. Les espèces du groupe

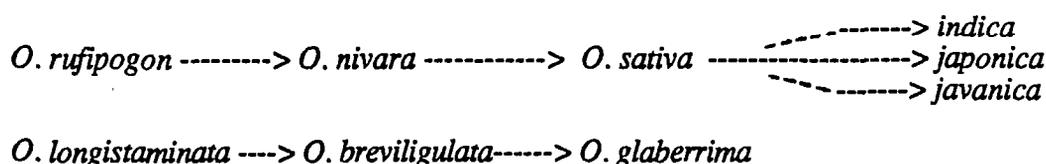
Le TABLEAU 1 résume la répartition géographique, les systèmes reproductifs et les types biologiques de ces espèces.

Si *O. sativa*, originaire d'Asie, se rencontre maintenant sur chaque continent, *O. glaberrima* Steud. n'est cultivée qu'en Afrique où elle tend à disparaître. Ces deux espèces, ainsi que *O. breviligulata* A. Chev. et Roehr sont strictement autogames. *O. rufipogon* Griff (synonyme : *O. perennis* Moench) est une espèce complexe, chez qui on détermine trois formes, suivant l'origine géographique, et qui présente un continuum de types annuels autogames (parfois nommés *O. nivara*) à pérennes et allogames. *O. longistaminata* a été longtemps considérée comme le rameau africain d'*O. rufipogon*, et nommée *O. perennis* ssp. *barthii* (OKA et MORISHIMA, 1967). Les travaux récents de GHESQUIERE (1988), ont contredit cette dénomination et montré que *O. longistaminata* était une espèce à part entière, distincte d'*O. rufipogon* par un certain nombre de spécificités.

2. Relations évolutives

Différentes hypothèses phylogénétiques ont été proposées pour expliquer l'origine des riz cultivés. Toutes voient dans la forme asiatique d'*O. rufipogon* l'ancêtre sauvage d'*O. sativa* et dans *O. breviligulata* celui d'*O. glaberrima*.

Selon OKA (1974a), *O. sativa* a été domestiqué en différents lieux à différentes époques. Sa différenciation en deux types provient d'une sélection disruptive sous l'influence de l'homme. CHANG (1976b) considère qu'à la suite de la fragmentation du Gondwana deux séries évolutives parallèles ont eu lieu, des formes pérennes vers les formes annuelles puis cultivées, suivant le schéma :



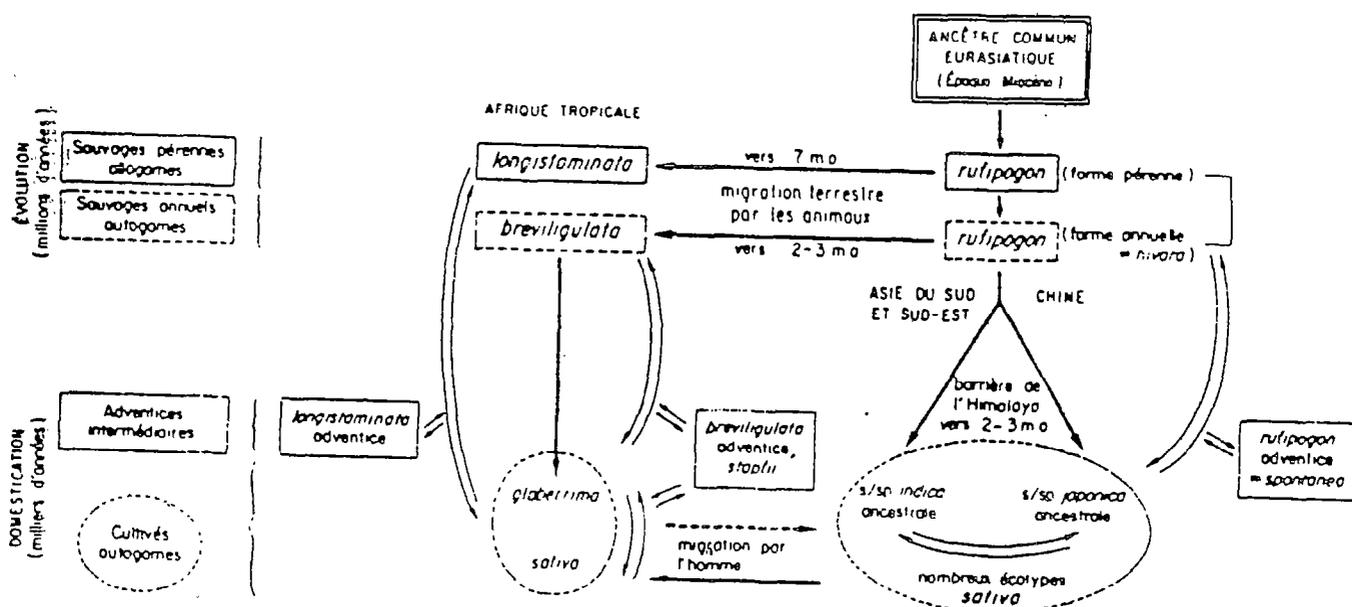
ESPECES CULTIVEES	ORIGINE	AIRE DE CULTURE	CONDITIONS DE CULTURE	TYPE BIOLOGIQUE	REGIME DE REPRODUCTION
<u>O. sativa</u> L. <u>indica</u> (2 sous-espèces) <u>japonica</u>	Asie du Sud-Est Chine	monde entier	très variable: pluvial strict à flottant	I	U
<u>O. glaberrima</u> Steud.	Afrique	Afrique de l'Ouest tend à disparaître	pluvial ou flottant	A	U

ESPECES SAUVAGES	REPARTITION	HABITAT	TYPE BIOLOGIQUE	REGIME DE REPRODUCTION
<u>O. breviligulata</u> A: Chev. et Roehr.	Afrique	mares temporaires	A	U
<u>O. rufipogon</u> Griff. (3 formes)	Asie Amérique Océanie	zones inondées plus ou moins permanentes	continuum de formes: pérennes allogames (<u>O. perennis</u>) à annuelles autogames (<u>O. nivara</u>)	
<u>O. longistaminata</u> A. Chev. et Roehr.	Afrique	varié: de plaines inondables à situations adventices	P	L + V

TABLEAU 1 : diversité des espèces du groupe Sativa

A: annuelle ; P: pérenne ; I: intermédiaire

U: autogame prédominant ; L: allogame ; V: multiplication végétative

FIGURE 1 : relations phylogénétiques entre les espèces du groupe Sativa

Les flèches simples indiquent une descendance directe. Les doubles flèches indiquent l'introggression par hybridations et rétrocroisements qui semble exister entre toutes les formes ou espèces sympatriques, sauf entre O. longistaminata et O. breviligulata, qui sont séparées par des barrières reproductives particulièrement développées

Plus récemment, l'étude extensive du polymorphisme enzymatique a permis à SECOND (1984) de proposer un schéma de l'évolution des différentes espèces du groupe *Sativa*, en accord avec les données paléoclimatiques. La FIGURE 1 en présente les principales étapes; il y aurait eu trois domestications indépendantes en Afrique (*O. glaberrima*), en Asie du Sud Est (type *indica* d'*O. sativa*) et en Chine (type *japonica*).

Par les migrations humaines les espèces éloignées se sont trouvées récemment confrontées. D'importants échanges génétiques, entre riz cultivés domestiqués indépendamment d'une part, et entre espèces sauvages et cultivées d'autre part, sont à l'origine de la diversité des variétés cultivées et de certaines formes adventices (SECOND, 1982).

GHESQUIERE (1988) a cependant mis en évidence la faible participation d'*O. longistaminata* dans ce processus de diversification des riz cultivés.

3. Spécificité des types *indica* et *japonica*

La partition des variétés d'*O. sativa* en deux types *indica* et *japonica* a fait l'objet de nombreux travaux (OKA, 1983, pour synthèse).

La première étude, menée par KATO *et al.* (1930) se fonde sur des différences de comportement sérologique, sur la stérilité des hybrides F1, et signale des différences morphologiques concernant notamment la forme et la disposition des feuilles, la forme, la pilosité et l'aristation des grains. Certains de ces caractères ont été repris par OKA (1958) qui les a associés à d'autres marqueurs pour définir des formules discriminant les deux types (TABLEAU 2); il a ainsi montré que la réaction des glumelles au phénol était fortement impliquée dans la différenciation *indica-japonica*.

Les nombreuses études de la diversité enzymatique des cultivars ont montré que l'on retrouvait nettement cette différenciation au niveau isozymique (PAI *et al.*, 1975; NAKAGAHRA, 1978; SECOND, 1982; GLASZMANN, 1982, 1985, 1987).

La classification des cultivars a conduit à plusieurs appellations des types définis par KATO *et al.* (1930). Ainsi, OKA (1958) distingue le groupe "continental" (correspondant aux variétés *indica*) du groupe "insulaire" (*japonica*), lui-même séparé en formes tropicales et tempérées. Certains auteurs (CHANG et BARDENAS, 1965) ont considéré le type *javanica* comme un groupe distinct de *japonica*. Cependant, que ce soit au niveau isozymique (SECOND, 1982) ou morphologique (GLASZMANN et ARRAUDEAU, 1986), la diversité des variétés *japonica* apparaît continue, les formes appelées *javanica* correspondant seulement aux formes tropicales du groupe. Désormais seules les appellations *indica* et *japonica* sont retenues.

CARACTERES	Références bibliographiques
BIOCHIMIQUES	
réaction au phénol	OKA, 1958
isozymes	PAI et al., 1973; 1975 NAKAGAHRA, 1978 SECOND, 1982 ENDO et MORISHIMA, 1983
GENETIQUES	
stérilité des hybrides F1	KATO et al., 1930 OKA, 1958
mauvaises recombinaisons	OKA, 1983 NAKAGAHRA, 1972; NAKAGAHRA et al., 1972; 1974
MORPHOPHYSIOLOGIQUES	
degré de résistance la sécheresse aux faibles températures à KClO ₃	OKA, 1958
degré de destruction par KOH	
domance	
égrenage	
dureté de l'albumen	
pilosité et aristation des grains	
longueur du premier entrenœud	
forme de la feuille et du grain	
photosensibilité	CHANG et BARDENAS, 1965
tallage	JACQUOT et ARNAUD, 1979
architecture paniculaire	MORISHIMA et OKA, 1981
nombreuses associations de caractères	
PATHOLOGIQUES	
sensibilité différentielle aux différentes races de <u>Pyricularia oryzae</u>	MORISHIMA, 1969

TABEAU 2 : les principaux caractères discriminant les sous-espèces indica et japonica

4. Originalité de la situation africaine

O. sativa a été introduit en Afrique de l'Ouest à partir du XVI^e siècle, mais son introduction en Afrique de l'Est est beaucoup plus ancienne (probablement au début de notre ère).

Plusieurs auteurs ont retrouvé, par l'étude de la diversité morphologique des cultivars traditionnels prospectés dans toute l'Afrique, la distinction en deux types *indica* et *japonica* (De KOCHKO, 1983; MIEZAN et GHESQUIERE, 1985). Malgré quelques exceptions, la réaction des glumelles au phénol constitue, comme pour les variétés asiatiques, un bon critère de discrimination.

Le polymorphisme enzymatique des cultivars africains apparaît proche de celui qu'a observé GLASZMANN (1982) chez les cultivars asiatiques. A partir de l'étude extensive de la diversité des cultivars d'*O. sativa*, SECOND (1982) définit des structures enzymatiques ancestrales *japonica* et *indica*. Sur la base de quatre loci particulièrement discriminants, il est possible de classer l'ensemble des variétés : sur les 16 combinaisons possibles, 8 seulement sont rencontrées (TABLEAU 3). GHESQUIERE et MIEZAN (1982) et De KOCHKO (1983) observent parmi les variétés traditionnelles africaines une grande abondance de formes hybrides et une faible représentation des formes parentales, surtout en ce qui concerne le type *japonica*.

En Afrique, cette distinction se superpose avec les deux principaux types de riziculture : les variétés *indica* se rencontrent essentiellement en riziculture irriguée, tandis que la riziculture pluviale pratiquée en zone forestière utilise principalement des variétés *japonica* (GHESQUIERE et MIEZAN, 1982). Enfin, GHESQUIERE et SECOND (1983) ont retrouvé chez certains cultivars des traces d'introgession par les espèces africaines, indiquant l'existence d'échanges génétiques entre *O. sativa* et ces espèces.

Structure génétique	ELECTROMORPHES				Réaction au phénol	Score en allèles ancestraux	Fréquence sur 150 cultivars africains *
	PGI-A	PGI-B	CAT-A	EST-E			
japonica ancestrale	2	1	2	0	-	-4	0,028
japonica hybride	2	1	2	1-2	-	-2	0,086
japonica hybride	2	1	1	0	-	-2	0,114
"javanica"	2	1	1	1-2	+ ou -	0	0,236
indica hybride	1	1	1	0	+	0	0,043
indica hybride	2	2	1	1-2	+	2	0,057
indica hybride	1	1	1	1-2	+	2	0,279
indica ancestrale	1	2	1	1-2	+	4	0,157

TABLEAU 3 : caractérisation des sous-espèces indica et japonica sur la base du polymorphisme aux 4 loci PGI-A, PGI-B, CAT-A, EST-E et de la réaction au phénol
 (* d'après GHESQUIERE et MIEZAN, 1982)

B - L'isolement entre les types *indica* et *japonica*

1. Les différents phénomènes responsables de l'isolement

Différents facteurs interviennent pour limiter les échanges génétiques entre les deux sous-espèces d'*O. sativa*. La stérilité des hybrides F1 est apparue comme un des facteurs discriminant les deux types (KATO *et al.*, 1930; OKA, 1957a). Par ailleurs, les sélectionneurs observent fréquemment un défaut de formes recombinées et un retour vers un des types parentaux dans les générations avancées de ces croisements. Plus rarement des phénomènes de faiblesse ou de chlorose sont observés chez les hybrides.

1.1. la stérilité des hybrides F1

Elle n'apparaît que dans certains croisements et se manifeste avec une intensité variable (OKA, 1953, 1957a; CLEMENT et POISSON, 1986). Elle s'exprime soit uniquement au niveau mâle, soit au niveau des deux sexes. De nombreuses hypothèses ont été émises pour tenter d'expliquer ce phénomène, se basant sur une origine génétique, chromosomique ou cytoplasmique.

Hypothèses génétiques

Plusieurs modèles génétiques ont été proposés, se distinguant par le mode d'action et le nombre de gènes en jeu. Ils impliquent fréquemment l'action de gènes complémentaires dupliqués (OKA, 1953, 1957a; OKA et DOIDA, 1962). Le modèle d'OKA (1953) fait intervenir deux gènes indépendants S1/s1 et S2/s2, qui entraînent un développement anormal des gamètes présentant simultanément les deux allèles récessifs (s1s2). OKA (1974b) a développé ce modèle en intégrant un classement de la fertilité des gamètes portant au moins un allèle dominant. La présence de plusieurs couples de gènes de ce type explique les taux de stérilité variables. Ainsi, KINOSHITA (1984) a recensé cinq couples de gènes du type "gametic lethals".

OKA (1974b) a proposé un autre modèle à un seul locus et deux allèles (S et Sa) où la stérilité provient d'une interaction sporo-gamétophytique : les gamètes Sa de l'hybride dégènèrent du fait de l'interaction entre S et Sa. SANO *et al.* (1979) ont repris ce modèle pour rendre compte de la stérilité des hybrides entre *O. sativa* et *O. glaberrima* : quatre gènes différents ont été proposés pour expliquer cette stérilité (SANO, 1985).

IKEHASHI et ARAKI (1987) ont étudié la stérilité des hybrides *indica* x *japonica* en réalisant des croisements trois voies faisant intervenir des variétés particulières, dites à large compatibilité

hybride, fertiles en croisement avec les deux types. Leurs résultats les ont alors conduit à adopter le modèle d'interaction sporo-gamétophytique, à un seul gène, et à remettre en cause le modèle à deux gènes : en effet, suivant ce modèle, on devrait observer des génotypes à large compatibilité hybride dans la descendance de croisements stériles. Or ce type de complémentarité n'a jamais été observé.

La mise en évidence de ces gènes de stérilité et leur localisation reposent sur l'observation de marqueurs monogéniques, la dégénérescence de certains gamètes entraînant l'élimination des marqueurs liés aux gènes de stérilité. Ceci peut expliquer les déviations observées dans les ségrégations de certains marqueurs, ainsi que les liaisons apparentes entre gènes indépendants.

Hypothèses cytogénétiques

Selon STEBBINS (1950), une stérilité d'origine cytogénétique peut être causée par des différences structurales trop infimes pour influencer matériellement l'appariement des chromosomes à la méiose. Ce phénomène, qu'il nomme "hybridité structurale cryptique", peut provenir de la mauvaise réversion de duplications ou de translocations. SHASTRY (1964) a observé des segments chromosomiques provenant de translocation. BOUHARMONT (1963) a fait une revue des anomalies méiotiques : il a constaté que le pourcentage d'aberrations était trop faible pour expliquer à lui seul la stérilité des hybrides. De même, ENGLE *et al.* (1969), CHU et OKA (1970b) et BOUHARMONT (1982) n'ont pas trouvé de relation entre le niveau de stérilité et les anomalies méiotiques.

Hypothèses cytoplasmiques

Dans certains cas, le niveau de fertilité varie suivant le sens du croisement, traduisant l'existence d'interactions nucleo-cytoplasmiques. Ce phénomène reste cependant marginal.

1.2. la stérilité et les distorsions de ségrégation en F2

La stérilité de descendance F2 peut provenir de la ségrégation des gènes responsables de la stérilité en F1. Cependant, certaines descendance d'hybrides F1 fertiles se révèlent partiellement stériles. OKA (1978) a expliqué ce phénomène par l'action de deux gènes complémentaires, où l'absence d'au moins un allèle dominant se traduit par une stérilité partielle. Suivant ce modèle, il a été possible de fixer parmi les plantes en ségrégation, des lignées semi-stériles. Cette stérilité se traduit par ailleurs par une variance élevée de la fertilité parmi les individus ou les épis d'une même plante. Quatre gènes de stérilité sporophytique ont été recensés (SATO *et al.*, 1987).

Des distorsions de ségrégation ont fréquemment été observées par les sélectionneurs dans les descendance de croisements *indica-japonica*. Le suivi de marqueurs morphologiques ou électrophorétiques a permis d'en donner une interprétation génétique. OKA (1953) a supposé que

les distorsions étaient causées par l'élimination des gamètes du fait de l'action des gènes dupliqués (précédemment cités) provoquant la stérilité.

NAKAGAHRA (1972), en étudiant les ségrégations d'autres marqueurs morphologiques a constaté que les distorsions étaient, dans certains croisements, indépendantes des gènes de stérilité, car il observait le même type de ségrégation quelle que soit la fertilité des hybrides. Il proposa alors l'existence de "gènes de certation" ("gametophyte gene" : *ga*) qui défavorisent les grains de pollen qui les portent, entraînant consécutivement les marqueurs liés. La certation peut concerner des grains de pollen viables, mais être due à des différences de comportement lors de la pollinisation. En F2, les fréquences sont donc déviées par rapport aux fréquences attendues. En F3, il est possible d'observer des recombinaisons entre le gène *ga* et le marqueur étudié; les recombinants ségrégent alors normalement ou même présentent un excès du génotype habituellement contre sélectionné (NAKAGAHRA *et al.*, 1974; NAKAGAHRA, 1985).

SATO *et al.* (1987) ont répertorié 10 gènes de certation, notés *ga-1* à *ga-10*, dont la localisation a été détectée à partir des taux de distorsions de ségrégation des marqueurs morphologiques. La relation entre ces gènes de certation et les gènes de stérilité gamétophytique demeure inconnue.

1.3. la faiblesse des hybrides

La faiblesse ou la chlorose des hybrides F1 ou F2 est un phénomène plus rare, mais également rencontré dans les croisements entre formes éloignées d'*O. sativa* (CHU *et al.*, 1969a). OKA (1957b) a proposé un modèle génétique à deux gènes dupliqués complémentaires et létaux. Si ces gènes sont dominants, ils nuisent au développement des hybrides F1; s'ils sont récessifs, la faiblesse n'apparaît qu'en F2.

2. Conséquences pour l'amélioration du riz

Les différents mécanismes décrits précédemment, limitant les possibilités d'échanges génétiques entre les sous espèces *indica* et *japonica*, ont assuré le maintien de ces structures au cours de l'évolution. Ils constituent cependant un obstacle pour les sélectionneurs, fréquemment tentés d'exploiter la complémentarité des deux types (HUNG et CHANG, 1976).

Ainsi, un programme de grande ampleur d'hybridations intersubspécifiques ("International Hybridization Scheme"), mené depuis 1950 sous l'égide de la FAO dans plusieurs pays d'Asie, n'a conduit qu'à l'obtention de quatre variétés commerciales (WASANO, 1982).

Afin de contourner ces problèmes, différentes stratégies ont été envisagées :

- l'exploitation directe de descendances de ces croisements impose d'augmenter considérablement les effectifs étudiés (ARRAUDEAU, 1975; CLEMENT et POISSON, 1984a);
- IKEHASHI (1982) a proposé d'utiliser des variétés à large compatibilité hybride comme pont entre les deux sous-espèces. La recherche de telles variétés impose de tester en croisement un grand nombre d'échantillons (IKEHASHI et ARAKI, 1984, 1987; CLEMENT et POISSON, 1986);
- la technique des back cross permet d'améliorer les recombinaisons, mais constitue un travail fastidieux chez *O. sativa* ;
- TAILLEBOIS (1983) a proposé un schéma de sélection récurrente réciproque entre groupes distants, la sélection récurrente visant à améliorer la fertilité des combinaisons interpopulations.

C - présentation de l'espèce sauvage *O. longistaminata*

1. Ecologie et mode de reproduction

O. longistaminata est une espèce sauvage, pérenne, caractérisée par l'émission de vigoureux rhizomes (PORTERES, 1949). On la rencontre dans toute l'Afrique intertropicale et à Madagascar. Elle occupe des niches écologiques variées. On distingue globalement quatre types de populations d'*O. longistaminata* (GHESQUIERE, 1985) :

- grandes populations, parfois monospécifiques, dans les plaines régulièrement inondées (lac Tchad, delta intérieur du Niger);
- petites populations de mares temporaires, pouvant être sympatriques de *O. breviligulata* ;
- populations de zones cultivées, récemment aménagées;
- populations adventices pouvant envahir les rizières, du fait de son mode de propagation par rhizomes.

Cette espèce est allogame et partiellement autoincompatible (NAYAR, 1967; CHU *et al.*, 1969b). GHESQUIERE (1985, 1988) a montré l'influence du type de population sur le niveau d'autocompatibilité des plantes : si les grandes populations sont totalement autoincompatibles, en condition d'adventices, les populations peuvent présenter un niveau d'autofertilité plus élevé. Il a donc expliqué l'amélioration du niveau d'autocompatibilité par l'existence d'introgessions entre les espèces autogames et *O. longistaminata*.

2. Variabilité enzymatique et morphologique

Dans une étude extensive du polymorphisme enzymatique de cette espèce, GHESQUIERE (1988) a montré l'importance de sa diversité. Cette variabilité repose sur un grand nombre d'allèles rares et présente une composante intrapopulation prépondérante, contrairement aux espèces autogames (TABLEAU 4).

La diversité des sites écologiques qu'elle occupe traduit ses facultés d'adaptation. Du point de vue morphologique, les composantes de la floraison (photosensibilité, rythme et importance de l'émission de panicules,...) constituent la principale source de variation. On observe également une certaine diversité pour d'autres caractères (vigueur des rhizomes, architecture paniculaire), et pour quelques marqueurs qualitatifs (pigmentation, pilosité,...).

	diversité génétique totale	% de locus polymorphe	nombre d'allèles par locus polymorphe	composantes de la diversité génétique **	
				inter population	intra population
espèces cultivées					
<u>O.sativa</u>	0,223	60%	1,9	88%	12%
ssp. <u>indica</u>	0,181	50%	1,75	63%	37%
ssp. <u>japonica</u>	0,104	30%	1,35	85%	15%
<u>O. glaberrima</u>	0,026	10%	1,1	68%	32%
espèces sauvages					
<u>O.breviligulata*</u>	0,099	35%	1,55	72%	28%
<u>O. longistaminata</u>	0,193	85%	3,25	20%	80%

TABLEAU 4 : variabilité enzymatique comparée pour 20 loci des différentes espèces du groupe sativa en Afrique

* : d'après SECOND (1985)

** : inter et intra variétés pour les espèces cultivées
(d'après CAUSSE et GHESQUIERE, 1987)

3. Relations avec les espèces autogames

3.1. mécanisme et déterminisme de la barrière reproductive

O. longistaminata est séparée des autres espèces du groupe *Sativa* par une forte barrière reproductive, provoquant la dégénérescence de l'albumen hybride, suivi de l'avortement de l'embryon (CHU *et al.*, 1969a). CHU et OKA (1970a), étudiant le déterminisme de cette barrière, ont constaté que l'avortement est plus ou moins précoce suivant le sens du croisement. Ces auteurs ont proposé un modèle génétique simple à deux gènes dominants complémentaires et létaux (D1 et D2) dont le dosage dans l'albumen hybride provoque un avortement plus ou moins différé (TABLEAU 5).

3.2. obtention d'hybrides contrôlés

Cette barrière n'est toutefois pas complète : CHU et OKA (1970a) ont testé la validité de leur modèle sur les descendants des 3% d'hybrides F1 viables obtenus. Ils ont supposé que ces plantes provenaient de la ségrégation de gènes modificateurs ou d'une pénétrance limitée des effets létaux.

A l'ORSTOM, GHESQUIERE (1988) a observé un taux de réussite des croisements comparable à celui de CHU et OKA (1970a) : il a obtenu en moyenne 4,1% de caryopses à albumen normal à partir de plus de 5000 épillets croisés. Il a confirmé les effets de dosage en gènes D1 et D2 dans l'albumen des graines F1, mais il a montré que la mise en place de la barrière au niveau des back cross interspécifiques était variable et s'ajustait moins bien au modèle.

A la suite de BOUHARMONT (1961), TAILLEBOIS (1983) a eu recours à la culture d'embryons : il n'a obtenu que 10 hybrides interspécifiques sur plus de 2000 épillets fécondés. La comparaison des niveaux de barrière reproductive (estimés à partir des pourcentages d'hybrides obtenus) n'a pas révélé de gain net par la technique de culture d'embryons (GHESQUIERE, 1988).

3.3. les hybrides spontanés

Divers auteurs ont constaté, après analyse de graines issues de collectes dans des populations d'*O. longistaminata*, l'existence d'hybrides interspécifiques spontanés (CHU et OKA, 1970b; SECOND *et al.*, 1977). CHU et OKA (1970b), surpris par l'absence de rhizomes et la vigueur importante de ces plantes (tallage abondant, nombre élevé d'épillets par panicule) les ont nommées plantes "*Obake*" (monstre, en japonais). Ces plantes présentent un niveau de fertilité pollinique variable (certaines sont totalement mâles stériles), mais leur fertilité femelle est généralement convenable.

génotypes de la barrière reproductive

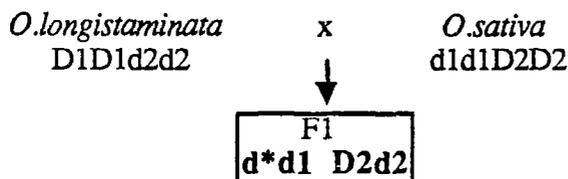
<i>O.sativa</i>	D1D1d2d2
<i>O.longistaminata</i>	d1d1D2D2
hybride F1	D1d1D2d2

sens du croisement	génotype de l'albumen F1
<i>O.longistaminata</i> x <i>O.sativa</i>	D1D1d1d2d2D2 Avortement précoce (Ap) pas de caryopse
<i>O.sativa</i> x <i>O.longistaminata</i>	D1d1d1d2D2D2 Avortement tardif (At) caryopse sans albumen

		D1			
		0	1	2	3
D2	0	N	N	N	N
	1	N	At	Ap	Ap
	2	N	At	Ap	Ap
	3	N	At	Ap	Ap

Dosage en gènes complémentaires D1 et D2 dans l'albumen triploïde
(N = caryopse normal)

a : modèle de CHU et OKA (1970a)



SYNDROME OBAKE F1
du à l'inactivation de D1 en d*

association et transmission "en bloc" des caractères suivants:
- absence de rhizomes
- fertilité pollinique faible
- perte de spécificité d'incompatibilité du pollen d*
- perte de la complémentation D2 ↔ d* à partir du pollen d*
- complémentation diminuée dans les sacs embryonnaires d*d* vis à vis du pollen D2
- forte dépression en autofécondation si d*d*

b : le syndrome Obake (d'après GHESQUIERE, 1988)

TABLEAU 5 : modèle d'hérédité de la barrière reproductive entre *O.longistaminata* et les espèces autogames

(d'après CHU et OKA, 1970a);
adaptation de ce modèle et définition du syndrome Obake
(d'après GHESQUIERE, 1988)

ROBIN (1986) a étudié un essaim d'hybrides naturels provenant de la récolte de quelques pieds d'*O. longistaminata* dispersés dans des rizières. Cet échantillon présentait un taux élevé de caryopses à albumen déficient, qui, une fois semés donnèrent tous des plantes "Obake", dépourvues de rhizomes, autocompatibles lorsque leur fertilité pollinique était suffisante et fleurissant abondamment. L'étude du polymorphisme de cette population révéla une diversité génétique élevée, associée à un excès d'hétérozygotes, du à des électromorphes d'origine introgressive. Le test des indices de fixation pour les loci SDH-A, EP-A, LAP-E (pour lesquels les deux espèces présentent des allèles totalement différents) permet de faire dériver ces plantes *Obake* des générations immédiatement consécutives à la F1. Leur patron électrophorétique prouva par ailleurs leur origine hybride entre une forme *indica* d'*O. sativa* et *O. longistaminata*.

L'étude des longueurs des fragments de restriction de l'A.D.N. chloroplastique a confirmé leur origine maternelle *O. longistaminata* (DALLY, 1988).

Le fonctionnement de la barrière reproductive de ces plantes vis à vis d'*O. sativa* et d'*O. longistaminata* est variable et ne s'accorde pas toujours bien avec le modèle de CHU et OKA. GHESQUIERE (1988) a montré que l'hybridation interspécifique, et notamment la réalisation de back cross alternés, provoquait des remaniements chromosomiques. La transposition d'un élément mobile, sous le contrôle du gène D2, dans le secteur contenant le gène D1 provoque l'inactivation de ce gène et permet le développement de caryopses qui, bien que déficients, pourront germer. Cet auteur définit alors les formes *Obake* comme un syndrome d'effets phénotypiques délétères, liés à la modification de D1 en un gène non fonctionnel d* (TABLEAU 5). Les plantes *Obake* et les hybrides F1 correspondent au petit nombre de situations viables à l'issue de la transposition.

Ces modifications affectent les spécificités d'*O. longistaminata* et provoquent l'absence de rhizome et la perte de l'autoincompatibilité du pollen d* (de faible fertilité). Ces plantes se caractérisent également par une forte dépression en autofécondation, ce qui empêche l'étude de leur descendance directe.

Cependant, dès le premier back cross sur l'une des deux espèces, les secteurs modifiés sont éliminés et remplacés par les gènes fonctionnels du parent récurrent, ce qui justifie leur utilisation comme ponts interspécifiques.

	<u>O. sativa</u>	<u>O. rufipogon</u> annuel	<u>O. rufipogon</u> pérenne asiatique	<u>O. longistaminata</u>
Taux d'allogamie	0 à qqs %	25 à 30%	20 à 45%	≈ 100%
Nombre de grains de pollen par anthère	700 à 2500	800 à 3100	3800 à 4500	plus de 7000
Longueur style + stigmate	1,50 à 2,50mm		1,75 à 3,25mm	2,75 à 4,25mm
Forme du pollen	rond		rond et ovale	ovale
Exertion des stigmates	0,2 à 87,8%	81,0%	91,8%	≈ 100%
Intervalle ouverture des épillets - éclatement des anthères	0 à 1mn	1 à 2mn	2 à 6mn	2 à 9mn

TABLEAU 6 : diversité des caractères responsables de l'allogamie chez 3 espèces du groupe Sativa

(d'après OKA et MORISHIMA, 1967)

3.4. introgression des caractères d'allogamie d'*O. longistaminata* chez *O. sativa*

En plus du système génétique d'autoincompatibilité, *O. longistaminata* assure son allopollinisation par de longs stigmates, bien exertés et de grosses étamines (OKA et MORISHIMA, 1967). Le transfert de ces caractères dans des variétés d'*O. sativa* a été étudié par TAILLEBOIS (1983) : en effet, *O. sativa* est une espèce totalement autogame (son taux d'intercroisement varie de 0 à environ 5%). L'exploitation de l'hétérosis par la création de variétés hybrides F1 nécessite d'introduire chez ces variétés des caractéristiques florales favorables à l'allopollinisation.

O. sativa présente une certaine diversité pour ces caractères (PARMAR *et al.*, 1979), jugés par ailleurs hautement héréditaires (VIRMANI *et al.*, 1982). Les valeurs maximales observées chez le riz cultivé demeurent toutefois incomparables à celles observées chez *O. longistaminata* (TABLEAU 6). Une fois surmonté le problème de création des hybrides F1, l'étude de back cross interspécifiques a montré que l'obtention de cultivars introgressés ayant les principaux caractères floraux d'*O. longistaminata* était envisageable (TAILLEBOIS, 1983, 1987).

MATERIEL ET METHODES

A - LE MATERIEL VEGETAL

1. Les variétés de riz pluvial

Dix variétés adaptées à la culture pluviale en zone forestière sont utilisées comme géniteurs mâles de la population G1. Leur origine géographique est résumée dans le TABLEAU 7. La diversité de ces variétés couvre l'étendue du pool *japonica* tropical défini sur la base du polymorphisme enzymatique. Le TABLEAU 8 présente les génotypes des variétés pour neuf loci étudiés ici; les types génétiques correspondants sont indiqués dans le TABLEAU 7.

Leur diversité s'exprime également au niveau morphologique, que ce soit pour la longueur du cycle, le tallage ou l'architecture paniculaire. Par ailleurs, trois variétés possèdent des marqueurs de pigmentation (P5, P6, P7), et une variété est aristée (P4).

La variété P7, avec un tallage très abondant, des feuilles paniculaires fines, des panicules courtes et peu ramifiées, une réaction positive des glumelles au phénol, est très particulière. Elle possède également un profil enzymatique original (LAP-E2, GOT-C2) provenant probablement d'une introgression par *O. longistaminata*.

2. La plante *Obake*

Une plante *Obake* (UL16.6) est utilisée comme parent femelle de la population. Originnaire de la région du lac Tchad, au Nord Cameroun, elle provient d'un échantillon de graines collectées dans une population d'*O. longistaminata* adventice de culture d'*O. sativa* de type *indica* (BORGEL et SECOND, 1978). D'autre part, son profil enzymatique confirme son origine introgressée par une variété *indica* d'*O. sativa*.

Elle possède une fertilité pollinique très faible (20% des grains de pollen sont colorables par le réactif d'Alexander), ce qui permet de l'utiliser en croisements sans castration. Sa floraison est continue, et sa fertilité femelle suffisante pour obtenir un grand nombre de graines hybrides relativement rapidement.

abrév.	variétés	origine	type	type de culture
P0	MOROBEREKAN	Cote d'Ivoire	japonica hybride	variété traditionnelle vulgarisée en RCI
P1	IGUAPE CATETO	Brésil	japonica hybride	variété traditionnelle vulgarisée en RCI
P2	IAC 164	Brésil	japonica hybride	variété améliorée
P3	YS 252	Guinée Conakry	japonica hybride	riz de bas fond, culture pluviale
P4	BS 182	Guinée Bissau	japonica hybride	culture pluviale
P5	BS 145	Guinée Bissau	intermédiaire	culture pluviale
P6	ES 83	Tanzanie (Pemba)	japonica parental	culture pluviale
P7	YS 309	Guinée Conakry	intermédiaire	sol hydromorphe
P8	ES 70.6	Tanzanie (Pemba)	japonica parental	sol hydromorphe
P9	YS 45	Guinée Conakry	intermédiaire	culture pluviale
UL16.6	Obake	Lac Tchad	hybride interspécifique	adventice

TABLEAU 7 : origine géographique et écologique des géniteurs utilisés

abrév.	EST Ca	EST B	EST E	LAP E	PGD A	CAT A	SDH A	EP A	PGI A	phenol
P0	2	1	1	1	1	2	3	4	2	-
P1	2	1	0	1	1	1	3	4	2	-
P2	2	1	0	1	1	1	3	4	2	-
P3	2	1	1	1	1	2	3	4	2	-
P4	2	1	0	1	1	1	3	4	2	-
P5	2	1	1	1	3	1	3	4	2	-
P6	2	1	0	1	1	2	3	4	2	-
P7	2	1	1	2	3	1	3	4	2	+
P8	2	1	0	1	1	2	3	4	2	-
P9	2	1	1	1	3	1	3	4	2	-
UL16.6	1	1X5	2X0	1X5	1X2	1	1X2	2X4	1X10	+

TABLEAU 8 : géotypes des variétés parentales pour les loci enzymatiques étudiés et pour la réaction au phénol

(la nomenclature utilisée pour les différents loci est présentée en ANNEXE II)

B - METHODES

1. Protocole expérimental

La FIGURE 2 résume les principales étapes de l'expérience.

1.1. obtention des hybrides

La plante *Obake*, multipliée au préalable par éclat de touffes, est cultivée en pots, en condition aquatique. Le semis échelonné des variétés parentales permet de réaliser les croisements de façon continue, suivant le rythme d'émission de panicules de la plante *Obake*. Un apport d'engrais bimensuel (NPK 10-18-18, 100g/ bac) assure un bon niveau de floraison de ces plantes.

De janvier à mai 1986, plus de 500 croisements par approche ont été réalisés. Les panicules sont ensachées ensemble dans la matinée. L'agitation régulière des sacs assure une bonne pollinisation. Après 3 à 4 jours, la panicule mâle est retirée, et les panicules femelles sont récoltées 3 semaines après le croisement. Les croisements sont réalisés sans castration étant donné la faible fertilité pollinique d'UL16.6 et le risque de chute prématurée des épillets qu'occasionnerait cette méthode. Le contrôle de l'autofertilité de la plante *Obake*, réalisé par ensachage des panicules d'UL16.6 seules montre que ce taux peut être négligé.

1.2. observation des hybrides de première génération et des variétés parentales :

ESSAI G1

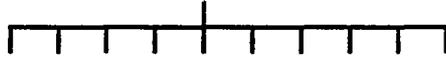
Les graines décortiquées et désinfectées sont semées dans des terrines de terre stérilisée (105°C pendant 24h). Pour chaque famille d'hybrides, on sème 240 graines dans une terrine. Deux semis sont effectués, à 5 jours d'intervalle. Afin de les comparer aux hybrides, les 10 variétés parentales sont semées dans les mêmes conditions, à raison de 100 graines par variété.

Les plantes sont repiquées en plein champ 15 jours après le semis, à une densité de deux plantes au mètre carré, permettant l'observation individuelle des plantes. L'essai comporte deux blocs totalement randomisés; deux autres parcelles d'effectifs déséquilibrés à la suite d'une mortalité précoce importante n'interviennent pas dans les notations, mais ont été conservées pour augmenter le nuage pollinique et la production de graines. Dans chaque bloc, 75 plantes par famille d'hybrides sont repiquées, et les 10 variétés parentales sont chacune représentées par 10 individus. Afin que les variétés d'*O. sativa* ne participent pas à la pollinisation, leurs trois premières panicules sont ensachées dès leur apparition, les suivantes sont supprimées avant l'épiaison.

Par la suite, cette génération est notée G1.

CREATION D'UNE POPULATION D'HYBRIDES INTERSPECIFIQUES

une plante Obake (O.longistaminata x O.sativa, indica)

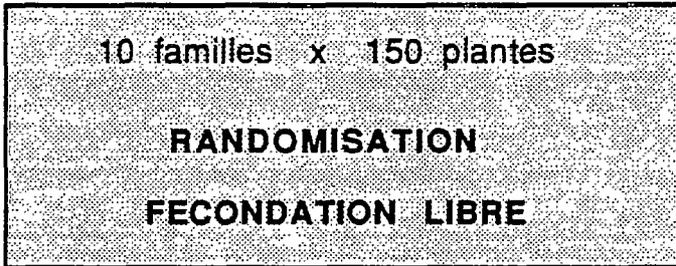


P0

P9

10 variétés de riz pluvial (O.sativa, japonica)

POPULATION G1 : HYBRIDES DE PREMIERE GENERATION

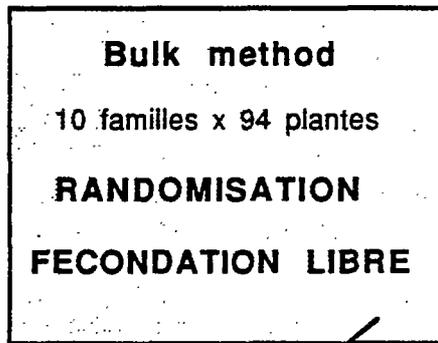
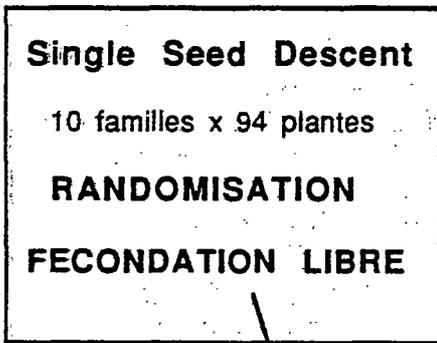


- diversité morphologique
- électrophorèse: contrôle des recombinaisons

POPULATION G2 : HYBRIDES DE SECONDE GENERATION

aucune sélection

sélection sur la fertilité



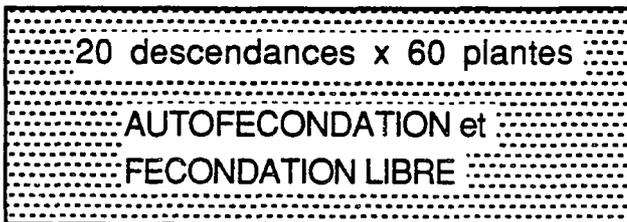
Intercroisement en G1

- diversité morphologique
- électrophorèse: contrôle des recombinaisons

Intercroisement en G2

DESCENDANCES EN AUTOFECONDATION DES PLANTES G2

LES PLUS FERTILES : ESSAI G3



- restauration de la fertilité
- valeur agronomique
- caractéristiques sauvages

FIGURE 2 : protocole expérimental

1.3. observation des hybrides de deuxième génération : ESSAI G2

Les hybrides G1 ayant produit un nombre très variable de graines, deux méthodes de passage à la génération suivante sont mises en place et comparées, la "Single Seed Descent" et la "Bulk method". Ces deux méthodes s'inspirent des méthodes de création variétale appliquées aux espèces autogames (BRIM, 1966; GOULDEN, 1939).

La Single Seed Descent (SSD) consiste à prélever une graine par plante. En pratique, pour 94 plantes G1 de chaque famille, 4 graines sont semées en poquet, mais une seule plante est repiquée.

Pour la "Bulk method" (Bulk), un mélange (bulk en anglais) de toutes les graines produites par 94 plantes de chaque famille est constitué. On prélève 376 graines aléatoirement dans chaque "mélange". Celles-ci sont semées et 94 plantes par famille sont repiquées.

L'essai est donc composé de deux blocs (SSD et Bulk) séparés; chaque bloc comprend dix familles de 94 plantes. Les individus au sein de chaque bloc sont totalement randomisés. Afin d'augmenter le nuage pollinique, les plantes supplémentaires issues du semis sont repiquées autour de ces deux blocs, mais non observées.

Pour cet essai, le semis est réalisé directement en pleine terre, dans une pépinière installée à proximité du champ, les jeunes plantes étant protégées des oiseaux par un filet. Le repiquage a lieu 15 à 20 jours après le semis, à la même densité qu'en G1.

Afin d'observer le comportement de la plante *Obake* dans des conditions similaires, des boutures d'UL16.6 ont été réparties dans chaque bloc (16 plantes par bloc).

Par ailleurs, 20 descendances de plantes fertiles G1, obtenues en fécondation libre, ont été observées dans un essai mis en place dans les mêmes conditions, à proximité des 2 blocs principaux. Ces descendances (représentées chacune par 60 plantes) sont utilisées uniquement pour l'étude de la germination et des phénomènes de faiblesse.

L'élimination des panicules des variétés parentales au fur et à mesure de l'épiaison représentant un travail fastidieux, les 10 variétés ont été placées dans un bloc isolé des hybrides par une haie de manioc. Malheureusement cette parcelle a subi de gros dégâts après le repiquage et les résultats n'ont pu être exploités.

abréviation	caractère	notation
-------------	-----------	----------

a : PIGMENTATION ET ARISTATION

PIG	pigmentation du collet 70 jours après le repiquage	0 non pigmenté 1 pigmenté
STIG	couleur des stigmates	0 blanc 1 rose 2 noir
CA	coloration de l'apicule	0 non anthocyané 1 anthocyané
CR	coloration des arêtes	0 non anthocyané 1 anthocyané
COLO	note composée des trois marqueurs (PIG, STIG, CA)	0 aucun organe pigmenté 1 1 des 3 organes pigmentés 2 2 des 3 organes pigmentés 3 les 3 organes pigmentés
ARIS	aristation	0 non aristé 1 subaristé 2 aristé

b : CARACTERES LIES AU DEVELOPPEMENT

V70	vigueur 70 jours après le semis	0 plante morte 1 faible croissance en hauteur 2 faiblesse générale 3 vigueur normale
T40 T60	nombre de talles 40 et 60 jours après le semis	QN (en G3)
H40 H60	hauteur 40 et 60 jours après le semis	QN (en G3)
PORT	port de la plante	1 dressé 2 ouvert 3 prostré
LOFP	longueur de la feuille paniculaire	0 moins de 20 cm (QN en G3) 1 de 20 à 40 cm 2 de 40 à 60 cm 3 plus de 60 cm
LAFP	largeur de la feuille paniculaire	1 moins de 2 cm (QN en G3) 2 plus de 2 cm

c : CARACTERES LIES AU TALLAGE ET A LA FLORAISON

EPI	précocité (nombre de jours depuis le semis)	QN
SP4	nombre de panicules émises en 4 semaines	QN
QF	qualité de la floraison	1 hétérogène 2 normale
ET	type d'étamines	1 fines; +/- indéhiscentes 2 jaunes, normales

TABLEAU 9 : les caractères étudiés et leur notation

QN: notation quantitative

1.4. descendance en autofécondation : ESSAI G3

Parmi les plantes les plus fertiles de l'essai G2, 60 hybrides ont été choisis et transplantés en pots. Leur fertilité en autofécondation a été mesurée en serre, par ensachage des 10 premières panicules. Parmi les descendance obtenues, 20 ont été étudiées au cours d'un essai en pleine terre (essai G3), mis en place sous un filet.

Cet essai comprend 3 blocs complets de 24 lignes, de 20 plantes.

Un bloc est constitué des 20 descendance en autofécondation (notées A à T);, et de 4 variétés parentales (P0, P7, P8, P9), prises comme témoins.

120 graines par descendance sont décortiquées et semées en terrine de terre stérilisée. Les plantes sont repiquées 15 jours après le semis. Les lignes sont espacées de 1 mètre, et les plantes sont repiquées sur une ligne tous les 25 cm.

Par ailleurs, la descendance en fécondation libre d'une plante fortement hétérozygote a été choisie pour étudier les liaisons entre les marqueurs enzymatiques (descendance Z).

1.5. itinéraires culturaux

Les itinéraires culturaux des essais G1 et G2 sont récapitulés en ANNEXE I.

Plusieurs traitements phytosanitaires sont appliqués (matière active) :

- pulvérisation hebdomadaire de peltar (manèbe+thiopropanate+méthyl) pour limiter les dégâts dus aux maladies cryptogamiques (pourriture du collet après le repiquage et pyriculariose);
- traitement au thimul (endosulfan), contre les borers à partir de la montaison;
- traitement au décis (deltaméthrine), après le repiquage, contre les insectes.
- en G3, des analyses racinaires ont révélé une forte concentration de nématodes dans le sol : 2 traitements nématicides (furan, puis thémik) ont été réalisés.

L'itinéraire cultural de l'essai G3 est semblable à celui des 2 essais précédents.

2. Les caractères étudiés

Après avoir observé la germination et la viabilité de l'ensemble des plantes au champ, la diversité morphologique des hybrides est étudiée sur un échantillon représentatif de chaque famille à chaque génération. Nous avons retenu, pour l'analyse des principaux caractères :

- en G1, 62 plantes par famille;
- en G2, 62 plantes par famille, pour chaque méthode;
- en G3, 27 plantes par descendance.

Pour certains caractères (fertilité pollinique, pérennité, format du grain, caractères d'allogamie), l'échantillon est réduit; dans ce cas l'effectif étudié est précisé.

abréviation	caractère	notation
-------------	-----------	----------

d : CARACTERES PANICULAIRES

EXE	exertion (en cm)	QN
LOPA	longueur des panicules (cm)	QN
RAP	nombre de ramifications primaires	QN
RAS	nombre de ramifications secondaires	QN
DENS	"densité de ramification": rapport RAS/RAP	QN
COPA	"compacité paniculaire": rapport RAP/LOPA	QN
NIE	nombre d'insertion d'épillets	QN (noté en G3 uniquement)
EGRE	égrenage (notation en G3 uniquement)	0 à 4 suivant la fraction de grains tombés à la récolte

d_i : CARACTERES LIES A LA FERTILITE

FPOL	fertilité pollinique	QN
NGR	nombre de grains récoltés par plante	QN
FAF	fertilité femelle estimée en autofécondation	QN
FFL	fertilité en fécondation libre	QN (noté en G3 uniquement)

e : AUTRES CARACTERES

PHE	réaction des glumelles au phénol	0 négative 1 positive
LAGR	largeur des grains	QN (en G2 uniquement)
LOET	longueur des anthères	QN (en G2 uniquement)
LOST	longueur des stigmates	QN (en G2 uniquement)
EXST	exertion des stigmates (suivant le % de stigmates exertés une semaine après la floraison)	0 de 0 à 30% (en G2 et G3) 1 de 30 à 60% 2 plus de 60%
PBi	note de pérennité attribuée au bouturage au noeuds i	QN (en G1 et G2)
PLi	note de pérennité attribuée à la lecture au noeuds i	QN i = 1 à 3
PERi	"pérennité du noeuds i": PLi-PBi	QN

TABLEAU 9 (suite)

2.1. pigmentation et aristation

Les notations sont qualitatives et portent sur la pigmentation du collet (PIG), des stigmates (STIG) et de l'apiculus (CA). Lorsque les plantes sont aristées (ARIS), la couleur des arêtes (CR) est également observée (TABLEAU 9a).

2.2. caractères liés au développement végétatif

La vigueur au stade jeune est notée qualitativement en G1 et G2 (V70). En G3, le développement des plantes est suivi en mesurant le nombre de talles (T40 et T60) et la hauteur des plantes (H40 et H60), 40 et 60 jours après le semis. La hauteur à maturité est mesurée à la base du drapeau, sur la talle principal (HAUT). La longueur et la largeur de la feuille paniculaire (LOFP et LAFP) sont mesurées qualitativement en G1 et G2, quantitativement en G3 (TABLEAU 9b).

2.3. tallage et floraison

La date de première épiaison est notée pour chaque plante (EPI, exprimé en nombre de jours après le semis). Chaque semaine, les panicules sont dénombrées et marquées par une couleur caractéristique. L'homogénéité de la floraison (QF) et la déhiscence des anthères (ET) sont appréciées qualitativement (TABLEAU 9c).

2.4. architecture paniculaire et fertilité

En G1 et G2, les plantes étant très égrenantes, la récolte des graines s'effectue au champ, grain par grain. Pour chaque panicule, deux passages ont lieu, 15 jours et 3 semaines après l'épiaison (la date est reconnue grâce aux couleurs caractéristiques). Les trois premières panicules sont ensuite coupées et mesurées (TABLEAU 9d). En G1 et G2, le nombre de graines (NGR) correspond donc au nombre total de graines récoltées par plante, quel que soit le nombre de panicules ou d'insertions d'épillets sur les panicules.

En G3, le nombre de grains produits est compté sur les 4 premières panicules émises, après récolte; pour 15 plantes par descendance, les 2 premières panicules sont ensachées dès l'épiaison, les 2 suivantes laissées en fécondation libre. On peut ainsi comparer la fertilité en autofécondation (FAF) et en fécondation libre (FFL).

La fertilité pollinique (FPOL) est estimée par le pourcentage de grains de pollen colorables au réactif d'ALEXANDER (1969) : 200 grains de pollen sont observés au microscope. Les gamètes viables présentent un cytoplasme rouge, occupant tout le volume du grain de pollen; les grains

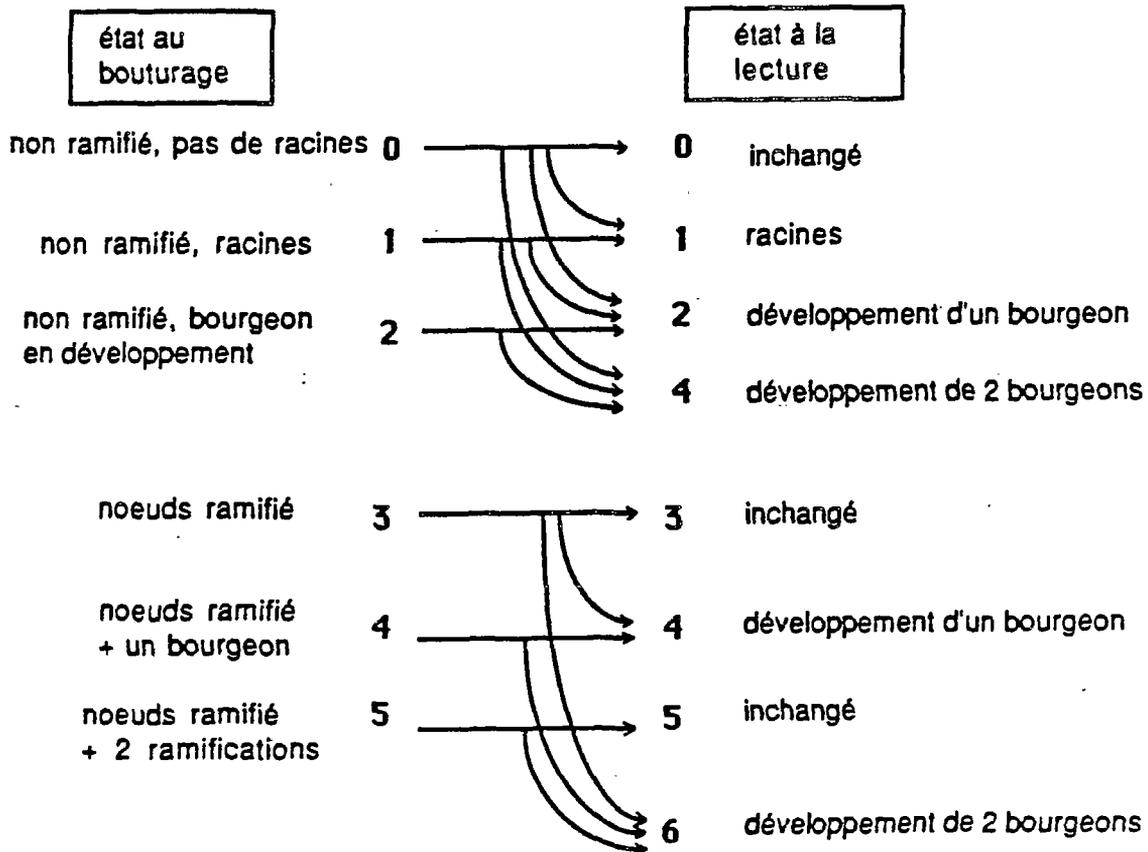
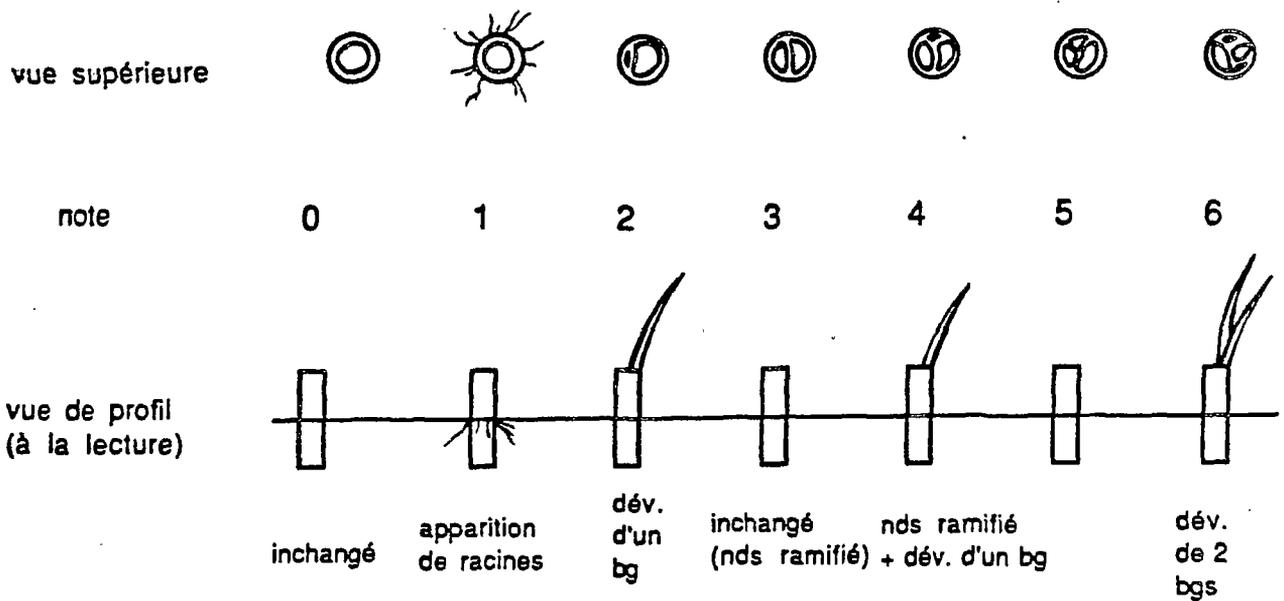


FIGURE 3 : méthode de notation de la pérennité:
les différents cas de figures possibles

vides ou partiellement remplis sont jugés non viables. Cette mesure est réalisée à partir de 3 épillets prélevés au centre de panicules ayant commencé à fleurir. Les épillets sont conservés dans de l'alcool acétique (2 : 1). Pour chaque famille, en G1 et G2, la fertilité pollinique de 40 plantes est étudiée. En G3, on l'estime pour 27 individus par descendance.

Les différents niveaux d'égrenage en G3 sont notés qualitativement après la récolte, par agitation des panicules.

2.5. la réaction des glumelles au phénol

A l'épiaison, 4 épillets sont prélevés et immergés 48 heures dans une solution de phénol à 2%. La coloration noire des glumelles indique une réaction positive, tandis que l'absence de changement de couleur correspond à une réaction négative. En G1, la réaction est étudiée sur 100 plantes; en G2 et G3, toutes les plantes ayant fleuri sont testées (TABLEAU 9e).

2.6. le format des grains

La largeur (LAGR) des grains est étudiée en G2, sur un échantillon de 40 plantes par famille. Pour chaque plante, 10 grains sont mesurés (TABLEAU 9e).

2.7. les caractères d'allogamie

En G2, les caractères d'allogamie sont étudiés sur 80 plantes appartenant à 2 familles (H2 et H4) : on mesure la longueur des anthères (LOET) et des stigmates (LOST) au moyen d'un agrandisseur photographique (ANGUETE, 1987). Le pourcentage de stigmates exertés une semaine après le début de la floraison (EXST) est noté qualitativement (TABLEAU 9e).

2.8. le test d'aptitude au bouturage

En G1 et G2, un test de pérennité est réalisé sur 40 plantes par famille (même échantillon que pour la fertilité pollinique) (TABLEAU 9e). L'expérience consiste à prélever, à maturité, sur 3 tiges, les 3 premiers noeuds apicaux. Ces boutures, d'environ 4 cm, sont placées dans une terrine de sable stérilisé. On note l'état de la bouture (PB : présence de racines ou d'un bourgeon, noeud déjà ramifié,...). Trois semaines plus tard, on observe s'il y a eu développement de racines ou régénération d'un bourgeon (FIGURE 3). La note de "pérennité" (PER) correspond à la différence entre les notes attribuées au bouturage (PB) et trois semaines plus tard (PL), à la lecture.

génération	nombre de familles	nombre de plantes	remarques
G1	H0	91	sauf EP et PGD
	H7	89	
G2 SSD	H2+4	80	PGI étudiées seulement pour H0 et H7
	H6+8	81	
	H0+3	80	
	H5+9	77	
	H7	53	
G2 Bulk	H2+4	64	PGI étudiées seulement pour H0 et H7
	H6+8	60	
	H0+3	60	
	H5+9	60	
	H7	60	
desc (G2) estimation (G2)	H0	115	16 descendances de 6 à 10 individus
	H2	144	22 descendances
	H4	226	26 descendances
G3			10 descendances de 45 à 60 plantes

TABLEAU 10 : effectifs étudiés en électrophorèse

3. L'électrophorèse enzymatique

On utilise la technique d'électrophorèse sur gel d'amidon décrite par SECOND et TROUSLOT (1980). L'étude porte sur 9 loci codant pour 7 systèmes enzymatiques :

HYDROLASE :

- estérase (3 loci: EST-Ca, EST-B, EST-E);
- endopeptidase (locus EP-A)
(révélation inspirée de CARDY *et al.*, 1981);
- leucine-aminopeptidase (locus LAP-E);

DESHYDROGENASE :

- 6-phosphogluconate déshydrogénase (locus PGD-A);
- shikimate déshydrogénase (locus SDH-A)
(révélation d'après TANKSLEY et RICK, 1980);

OXYDASE :

- catalase (locus CAT-A);

ISOMERASE :

- phosphoglucose-isomérase (locus PGI-A).

La dénomination des loci et des allèles est celle développée par SECOND et TROUSLOT (1980), puis GHESQUIERE (1988). La correspondance avec la nomenclature prônée par le Rice Genetics Newsletter (MORISHIMA et GLASZMANN, 1986) est donnée en ANNEXE II.

Chaque gel est coupé en 3 à 4 tranches de 1,5mm d'épaisseur permettant chacune de révéler un système. Les organes prélevés et les tampons de migration sont récapitulés en ANNEXE II.

La révélation des PGI, à partir de feuilles non exertées conduit à des dédoublements de bandes qui rendent délicate la lecture des zymogrammes. En G2, cet enzyme a été révélé à partir de feuilles entièrement développées sur 2 familles. En G3, les PGI ont été révélés à partir de jeunes feuilles en croissance : connaissant les génotypes maternels des plantes, la présence de bandes dédoublées ne perturbait pas l'interprétation des zymogrammes. Les électrophorèses destinées à l'estimation du taux d'allopollinisation en G2 ont été réalisées sur des germinations.

A partir des 10 familles d'hybrides G2, on définit 5 groupes suivant les génotypes des variétés parentales. Les effectifs étudiés à chaque génération sont présentés dans le TABLEAU 10.

FREQUENCES GENOTYPIQUES TOTALES						
LOCUS	génotype	PARENTS		G1	G2	
		sativa	Obake		AF	PANM.
EST-B	B1B1	1		0,5	0,625	0,5625
	B1B5		1	0,5	0,25	0,375
	B5B5				0,125	0,0625
SDH-A	A3A3	1			0,25	0,25
	A1A2		1		0	0,125
	A1A3			0,5	0,25	0,25
	A2A3			0,5	0,25	0,25
	A1A1				0,125	0,0625
	A2A2				0,125	0,0625
EP-A	A4A4	1		0,5	0,625	0,5625
	A2A4		1	0,5	0,25	0,375
	A2A2				0,125	0,0625
PGI-A	A2A2	1			0,25	0,25
	A1A2			0,5	0,25	0,25
	A1A1				0,125	0,0625
	A1A10		1		0	0,125
	A2A10			0,5	0,25	0,25
A10A10				0,125	0,0625	

loci pour lesquels tous les génotypes des parents O.sativa sont identiques

LOCUS	génotype	fréq. génot. tot.		G1	fréquences en G2 par famille				
		PARENTS	Obake		AF		PANM.		
		sativa	Obake		génotype du parent Pi				
					E0E0	E1E1			
EST-E	E0E0	0,5		0,25	0,625	0,375	0,125	0,125	
	E1E0			0,25	0	0,188	0,25	0,3125	
	E1E1	0,5			0	0	0,25	0,125	
	E2E0		1	0,25	0,25	0,3125	0	0,1875	
	E2E2			0,25	0,125	0,0625	0,125	0,0625	
E1E2				0,25	0	0,063	0,25	0,1875	
LAP-E	E1E1	0,9		0,45	0,625	0,525	0,125	0,175	
	E2E2	0,1			0	0	0,25	0,025	
	E1E5		1	0,45	0,25	0,3625	0	0,2375	
	E2E5			0,05	0	0,013	0,25	0,1375	
	E5E5				0,125	0,0625	0,125	0,0625	
	E1E2			0,05	0	0,038	0,25	0,3625	
PGD-A	A1A1	0,7		0,35	0,625	0,45	0,125	0,15	
	A3A3	0,3			0	0	0,25	0,075	
	A1A2		1	0,35	0,25	0,3375	0	0,2125	
	A1A3			0,15	0	0,113	0,25	0,3375	
	A2A3			0,15	0	0,038	0,25	0,1625	
	A2A2				0,125	0,0625	0,125	0,0625	
CAT-A	A2A2	0,4			0	0	0,25	0,1	
	A1A1	0,6	1	0,6	1	0,8	0,25	0,4	
	A1A2			0,4	0	0,2	0,5	0,5	

loci pour lesquels les génotypes des parents O.sativa varient

TABLEAU 11 : Evolution des fréquences génotypiques théoriques
 en G2, les fréquences attendues sont estimées dans les 2 cas extrêmes : autofécondation stricte en G1 : t=0 (AF) ou panmixie : t=1 (PANM.)
 (les génotypes provenant obligatoirement d'intercroisement sont en caractères gras)

4. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec la programmathèque N.D.M.S. (NOIROT *et al.*, à paraître) sur un micro ordinateur GOUPIL.

Différentes méthodes statistiques sont employées :

- études univariées :

analyse de variance, comparaison multiple de moyennes (test de Newman et Keuls), comparaison de plusieurs moyennes à un témoin (test de Dunnett), test de l'homogénéité des variances (test de Bartlett ou de Hartley).

- analyses multivariées :

analyse en composantes principales (ACP), analyse factorielle discriminante (AFD), analyse factorielle des correspondances (AFC).

5. L'estimation du taux d'intercroisement

Il existe plusieurs méthodes d'estimation du taux d'intercroisement dans les populations naturelles, basées sur l'observation de caractères morphologiques, quantitatifs ou qualitatifs, ou sur l'analyse électrophorétique (JAIN, 1979; pour synthèse).

En G1 et G2, les estimations sont réalisées à partir de données enzymatiques. Deux méthodes sont employées : l'une fournit une estimation pour chaque locus (notée t), l'autre prend en compte simultanément l'information portée par tous les loci (notée t_m). Le taux d'allopollinisation en G1 est estimé à partir de la diversité des hybrides G2. L'estimation en G2 repose sur l'étude de descendances en fécondation libre : de 6 à 10 descendants par plante G2 sont étudiés. La connaissance préalable des génotypes maternels facilite les estimations. En G3, l'importance de l'allopollinisation est jugée uniquement en comparant la fertilité femelle en autofécondation et en fécondation libre.

5.1. les estimations locus par locus

L'estimation de t , dans les populations naturelles, repose sur l'analyse électrophorétique de familles de descendants (BROWN et ALLARD, 1970), suivant la procédure :

- 1 - identification du génotype maternel à partir du génotype de ses descendants (par la méthode du maximum de vraisemblance);
- 2 - estimation des fréquences des génotypes maternels;
- 3 - estimation des fréquences alléliques du pool pollinique;
- 4 - estimation de t à partir de la matrice de passage de la génération G_{n-1} à G_n .

LOCUS	génotypes provenant uniquement d'intercroisement	fréquence du génotype		génotypes concernant les groupes d'hybrides				
		si t=1	Ck	H0+3	H2+4	H6+8	H5+9	H7
SDH-A	A1A2	0,11	0,898	+	+	+	+	+
LAP-E	E1E2 + E2E5	0,058	0,942	+	+	+	+	
	E1E5	0,232	0,768					+
EST-E	E1E2	0,25	0,75		+	+		
PGD-A	A1A3 + A2A3	0,178	0,822	+	+	+		
	A1A2	0,205	0,795				+	+
CAT-A	A1A2	0,23	0,77		+		+	+
$c = \prod(C_k)$				0,689	0,398	0,517	0,513	0,418
$1-c$				0,311	0,602	0,483	0,487	0,581

**TABEAU 12 : méthode de calcul du facteur correctif intervenant dans
l'estimation de t_m en G1**

pour chaque groupe d'hybrides, seuls les génotypes marqués d'un + interviennent

C_k = fréquences des génotypes correspondant à des intercroisements non distinguables si $t=1$ (au locus k)
le facteur correctif $1-c = 1 - \prod(C_k)$

Dans notre cas, nous ne disposons pas de familles de descendants de plantes G1. Les trois premières étapes du calcul ont été modifiées : les fréquences génotypiques théoriques en G1 sont prises comme fréquences des génotypes maternels et nous avons estimé les fréquences du nuage pollinique à partir des fréquences alléliques observées en G2. Puis nous avons estimé t à partir des équations de passage des fréquences génotypiques en G1 à celles en G2, par la méthode du maximum de vraisemblance.

L'estimation de t en G2 se base sur l'étude de descendance, dont les génotypes maternels sont connus. Les fréquences alléliques observées en G2 constituent les fréquences du pool pollinique.

5.2. les estimations multilocus

Connaissant les génotypes parentaux, on peut déduire un certain nombre de génotypes qui n'apparaîtront chez les descendants qu'à la suite d'allopollinisation : le TABLEAU 11 compare les fréquences génotypiques attendues en G2 pour les deux régimes de reproduction extrêmes (panmixie et autofécondation) et met en évidence les génotypes de ce type.

La prise en compte simultanée de tous les loci permet d'individualiser parmi A plantes un certain nombre \hat{A} de descendants qui proviennent d'intercroisements directement discernables. Le taux d'intercroisement t_m est alors estimé par :

$$t_m = \hat{A} / A(1-c) \quad \text{et} \quad \text{var}(t_m) = t_m(1-t_m(1-c)) / A(1-c)$$

$(1-c)$ est un facteur correctif où c est la probabilité de ne pas identifier un intercroisement qui a eu lieu (SHAW *et al.*, 1981). Le TABLEAU 12 présente les loci intervenant pour chaque famille dans l'estimation de t_m en G1 et les facteurs correctifs correspondants. L'estimation de t_m en G2 se base sur la diversité de 7 loci et le facteur correctif, de l'ordre de 10^{-3} , est négligé.

5.3 test d'hétérogénéité des estimations

En raison des fortes variances observées, les moyennes des estimations sont calculées par :

$$\bar{t} = \sum_i (t_i/s_i^2) / \sum_i (1/s_i^2) \quad \text{où } t_i \text{ est la } i\text{-ème estimation de } t, \text{ d'écart type } s_i.$$

Les estimations de t sont comparées entre elles par un X^2 :

$$X^2 = \sum_i (t_i - \bar{t})^2 / s_i^2 \quad (\text{JAIN, 1979}).$$

RESULTATS

La présentation des résultats comprend trois parties :

Le premier chapitre concerne la mise en place et le fonctionnement du système d'intercroisement spontané : les facteurs biologiques qui ont favorisé le brassage entre familles et les différents phénomènes sélectifs observés, qui risquent de biaiser les estimations des taux d'intercroisement, sont présentés. La validité des estimations réalisées est discutée, suivant l'impact de ces paramètres.

Dans la deuxième partie, la diversité morphologique des hybrides est présentée, en s'intéressant notamment à l'évolution de cette diversité au cours des générations, et à sa structuration. Les modalités d'exploitation des hybrides en vue de la création variétale sont envisagées, en étudiant les possibilités de s'affranchir des perturbations observées au cours des premières générations et d'éliminer les caractères défavorables provenant de l'espèce sauvage. Les conséquences de la sélection sur la fertilité sont analysées, en comparant la diversité des plantes issues de Bulk et de SSD, et en recherchant, parmi les descendance G3, des transgressions favorables.

Le troisième chapitre concerne le jugement des recombinaisons intergénomiques. Celles-ci sont étudiées à deux niveaux : entre les génomes des deux espèces *O. sativa* et *O. longistaminata* d'une part, entre les caractères des sous-espèces *indica* et *japonica* d'autre part. Plusieurs méthodes sont employées pour tenter d'estimer l'importance de ces recombinaisons. Elles reposent sur le suivi de marqueurs électrophorétiques et morphologiques, étudiés indépendamment ou sous forme d'association de marqueurs définissant des formules discriminantes. Les résultats des différentes approches sont confrontés et discutés.

variété pollinisatrice	panicules croisées	épillets croisés	nombre de grains	réussite en %	réussite max en %	caryopses à alb. anormal	% de caryopses anormaux
P0	55	4450	653	14,67	48	9	1,36
P1	62	5100	848	16,63	54	9	1,05
P2	66	5050	763	15,11	61	17	2,18
P3	63	5090	926	18,19	49	11	1,17
P4	73	5810	581	10,00	46	8	1,36
P5	63	5280	431	8,16	29	1	0,23
P6	64	5100	537	10,53	37	7	1,29
P7	98	7435	507	6,82	25	13	2,50
P8	94	6780	756	11,15	44	21	2,70
P9	97	7510	1175	15,65	39	19	1,59
total	735	57605	7177	12,46	43	115	1,58

**TABEAU 13 : réussite des croisements UL16.6 x O.sativa
et taux de caryopses à albumen anormaux**

1°) LES PARAMETRES DU BRASSAGE GENETIQUE : viabilité, fertilité et intercroisement

L'objectif de ne pas réduire prématurément la variabilité induite par l'hybridation interspécifique dépend de l'intensité et des conséquences des phénomènes sélectifs rencontrés au cours des générations. Plusieurs facteurs interviennent également pour favoriser ou au contraire limiter la réalisation d'opérations de brassage.

Après avoir indiqué les conséquences du génotype de la plante *Obake* vis à vis des gènes responsables de la barrière reproductive, nous présenterons les problèmes de viabilité rencontrés lors de la germination et du développement végétatif des hybrides en G1 et G2.

Nous exposerons ensuite les différents paramètres de la floraison qui influencent directement le brassage, ainsi que la fertilité des plantes. L'évolution du taux d'intercroisement sera ensuite étudiée, en tentant de le relier d'une part au niveau de stérilité, et d'autre part à la structure florale des hybrides.

A - L'obtention des hybrides de première génération

1. La réussite des croisements

L'autofertilité d'UL16.6 est contrôlée par ensachage des panicules dans des conditions semblables à celles des croisements. Sur 42 panicules ensachées (correspondant environ à 3500 épillets), 13 graines ont été obtenues. Parmi celles-ci, seules 9 ont germé et 2 plantes sont mortes avant le repiquage. Les 7 plantes restantes ont montré pour la plupart des défauts de développement, 2 plantes ne parvenant pas à fleurir, les autres s'avérant très stériles. On négligera donc le rôle des autofécondations d'UL16.6 dans la suite de l'expérience.

Les taux moyens de réussite des croisements varient entre 7% et 18% suivant la variété pollinisatrice (TABLEAU 13). Pour chaque croisement, les valeurs maximum observées (de l'ordre de 40%) montrent que la fertilité femelle d'UL16.6 n'est pas un facteur limitant.

	N	Av	réussite	génotype présumé d'UL16.6
UL16.6 x <u>O. longistaminata</u>	156	13	10%	complémenté: D2d2
UL16.6 x <u>O. sativa</u>	65	0	20%	
autofécondation d'UL16.6	13	0	0,36%	

a : comportement d'UL16.6 en croisement direct
(N : normal; Av : avorté)

nombre de descendants	génotype du descendant	génotype présumé d'UL16.6
7	D1d1	D1d1
10	D1D1	

b : détermination du génotype d'UL16.6 vis à vis du gène D1
à partir de descendance O.sativa x (UL16.6 x O.longistaminata)

TABLEAU 14 : détermination du génotype d'UL16.6 vis à vis des gènes responsables de la barrière reproductrice à partir de son comportement en croisement direct (pour D2) ou de celui de ses descendants (pour D1)

(d'après GHESQUIERE, 1988)

Les variétés P5 et P7 fournissent des résultats significativement plus faibles que les autres, entraînant des difficultés pour atteindre les effectifs souhaités. Ces variations ne semblent pas dues à une insuffisance de pollen ou à un effet de l'ensachage : en effet, certains croisements, réalisés en isolement sans ensachage, en entourant quelques pieds d'UL16.6 de nombreux pollinisateurs, ont donné des résultats proches de ceux obtenus par ensachage. Les différences de taux de réussite pourraient alors provenir d'interactions entre gamétophytes mâles et femelles.

Dans chaque croisement, un faible pourcentage de graines présente des déficiences au niveau du développement de l'albumen, celui-ci remplissant incomplètement l'enveloppe du grain et présentant un aspect parfois racorni (TABLEAU 13). L'origine de ce phénomène est à rechercher au niveau de la barrière reproductive entre *O. longistaminata* et *O. sativa*.

Nos résultats se rapprochent de ceux observés par GHESQUIERE (1988) : en croisant UL16.6 avec plusieurs variétés d'*O. sativa*, il obtient un taux moyen de réussite de 20%. De même, il observe dans ces croisements environ 4% de caryopses dont l'albumen est déficient.

2. Le génotype de la plante *Obake* vis à vis des gènes D1 et D2

Le génotype des plantes *Obake* peut être estimé directement, par l'étude des résultats des croisements avec les 2 espèces parentales, en comparant les ségrégations observées aux ségrégations attendues suivant les différents génotypes. Chaque croisement permet de tester s'il y a complémentarité entre les gènes D1 et D2. Du fait de la précocité de l'avortement lorsque *O. longistaminata* est utilisé comme parent femelle, la présence de D1 ne peut être testée que dans le croisement *O. sativa* x *Obake*, ce qui nécessite un niveau de fertilité pollinique suffisant chez la plante *Obake*. Ce type de croisement est impossible avec UL16.6, dont la fertilité mâle est trop faible. Son génotype est donc estimé indirectement, par l'étude des descendances de back cross alternés : *O. sativa* x (*Obake* x *O. longistaminata*).

A partir de l'observation de différents croisements, GHESQUIERE (1988) déduit le génotype double hétérozygote de la plante *Obake* UL16.6 (TABLEAU 14). Les résultats des croisements s'ajustent cependant moins bien au modèle de CHU et OKA (1970a) que lorsque la barrière reproductive est étudiée chez des hybrides F1. GHESQUIERE (1988) a montré en effet que ce modèle s'applique bien au cas des hybrides F1, mais que les plantes *Obake* peuvent s'en éloigner et présenter une grande diversité de comportements. Cet auteur suggère que l'origine des plantes *Obake* est à rechercher au niveau de back cross alternés qui provoquent une modification du gène D1 en un gène d*, qui complète moins bien vis à vis de D2.

3. Structure génétique de la plante *Obake* et ses conséquences

Le génotype D1d1D2d2 (ou d*d1 D2d2) d'UL16.6 aura plusieurs conséquences.

Dans les premiers croisements avec les variétés *O. sativa*, le gène D1 responsable du terme précoce de l'avortement, doit être éliminé, entraînant certains gènes qui lui sont liés. S'il s'agit d'un gène modifié d*, celui-ci est associé à une fertilité plus faible, et le même phénomène sera observé.

La population G1 sera donc composée de plusieurs génotypes, mais le gène D1 étant éliminé, aucun phénomène de stérilité ou d'avortement ne pourra par la suite être attribué à la complémentarité des gènes D1 et D2.

GHESQUIERE (1988) a recherché l'origine des plantes *Obake* dans des back cross complexes entre les deux espèces et a rejeté l'hypothèse d'une origine F1. L'origine la plus probable des génotypes semblables à celui d'UL16.6 serait donc des back cross de type alterné (F1 x *O. longistaminata*) x *O. sativa*. Cependant, que ce soit au niveau des gènes responsables de la barrière reproductive ou au niveau des différents loci enzymatiques étudiés, la structure génétique d'UL16.6 apparaît proche d'une structure F1. De même au niveau morphologique, les plantes *Obake* sont semblables à des hybrides F1. Ces résultats nous permettent de considérer la structure génétique d'UL16.6 comme celle d'un hybride *O. longistaminata* x *O. sativa*, ssp *indica*. La population G1 peut donc être considérée comme une population de back cross interspécifiques, ou comme une population d'hybrides trois voies, si on tient compte de l'origine *indica* ou *japonica* des géniteurs.

B - Le développement végétatif des hybrides

1. La germination des graines

1.1. l'évolution des taux de germination au cours des générations

Les pourcentages de germination observés 12 jours après le semis, pour chaque famille d'hybrides, et leur évolution au cours des générations sont présentés dans le TABLEAU 15. A chaque génération, les variétés parentales sont semées dans les mêmes conditions et germent avec un taux proche de 95%.

En G1, à la suite d'une attaque de pourriture du collet ayant provoqué une forte mortalité après le repiquage, un semis de secours a été réalisé avec toutes les graines inutilisées. En G2, le faible taux de germination de la famille 8 en SSD a été compensé par l'excès de plantes obtenu en Bulk. Ces remplacements provoquent un biais par rapport au protocole théorique; les effectifs concernés sont cependant peu importants et ce biais est négligé.

Chez *O. longistaminata*, les graines sont caractérisées par une dormance d'origine complexe, probablement tégumentaire et embryonnaire : un traitement à la chaleur ou l'ablation des téguments est insuffisant pour lever la dormance de graines fraîchement récoltées, tandis que chez certaines variétés *indica* d'*O. sativa*, on rencontre une dormance qui s'élimine facilement par un traitement à la chaleur. Chez les hybrides, ces différents phénomènes interviennent à des degrés variables, mais on peut également supposer que les défauts de germination sont liés aux conditions du milieu.

En G1, les graines présentent un remplissage irrégulier, ce qui peut, en partie, expliquer les défauts de germination. La germination est également très influencée par l'état des graines au semis, qui dépendra des conditions de récolte, de séchage et de conservation. La récolte en G1 est réalisée avant égrenage et, certaines graines sont récoltées immatures. Enfin, la récolte s'effectue parfois dans de mauvaises conditions d'humidité, ce qui peut également être néfaste à la germination.

En G2, les graines sont semées directement en pleine terre : les taux de germination apparaissent supérieurs en Bulk par rapport à la SSD. En fait, en SSD, aucun tri n'est réalisé, l'impératif de 4 graines par plante G1 obligeant parfois à conserver des graines mal développées, tandis qu'en Bulk, les plus belles graines sont choisies.

FAMILLE	G1	G2	
	% germ.	(SSD) % germ.	(Bulk) % germ.
H0	43	26	44
H1	50	37	46
H2	72	30	45
H3	34	36	47
H4	43	47	48
H5	45	28	50
H6	54	32	42
H7	55	45	56
H8	68	20	39
H9	70	29	46

TABLEAU 15 : taux de germination observés en G1 et G2

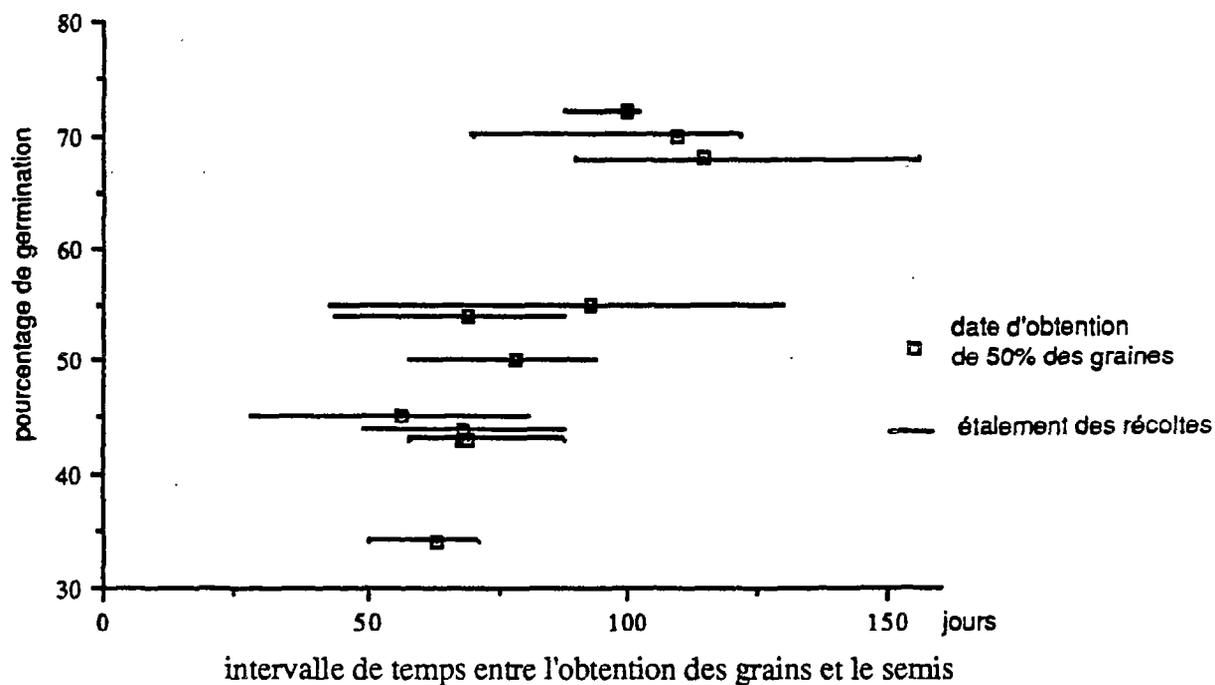


FIGURE 4 : la dormance des graines en G1:
relation entre la date d'obtention des graines et le taux de germination

Les graines utilisées en G3 sont obtenues sous serre, dans de bonnes conditions, et apparaissent parfaitement remplies; ces descendances germent de façon homogène, avec un taux proche de celui des témoins (le taux moyen de germination est de 89% pour les descendances et de 97,5% pour les témoins, sur 120 graines semées).

1.2. l'effet de dormance en G1

En G1, les graines ont passé 30 jours à 40°C, avant d'être décortiquées et désinfectées puis semées. Malgré ces traitements, on observe une liaison entre le taux de germination et la date à laquelle 50% des grains hybrides ont été récoltés (FIGURE 4). Dans les familles germant le plus mal, les grains n'ayant pas germé après 10 jours sont récupérés et une partie de l'albumen est éliminée : on observe alors un nouveau cycle de germination pouvant concerner jusqu'à 20% des graines coupées. Ce résultat traduit l'influence des différents phénomènes exposés précédemment, et notamment l'existence d'une dormance d'origine complexe. Cette dormance n'est plus rencontrée dans les générations suivantes, l'intervalle de temps séparant deux essais étant suffisant.

1.3. l'effet du génotype en G2

Le dispositif de semis en poquet mis en place pour la SSD permet de tester un éventuel effet du génotype parental sur la germination. La distribution du nombre de germinations observé par poquet est comparée à une distribution binomiale de paramètres n (nombre maximal de germinations par poquet : 4) et p (pourcentage de germination). La comparaison des distributions pour la totalité des familles révèle un excès significatif de poquets à 0, 3 et 4 graines. Ce résultat provoque un biais dans les effectifs en SSD : les échantillons sont complétés par les plantes provenant des poquets où plus d'une plante a germé. Le nombre moyen de plante utilisé par poquet varie de 1 à 1,6 suivant les familles.

De même, les taux de germination des descendances en fécondation libre de 17 plantes fertiles en G1 varient suivant le génotype parental de 1% à 77%, avec une moyenne de 43%. Ces différences peuvent être attribuées à l'existence chez l'espèce sauvage d'un certain nombre de gènes récessifs létaux, qui s'exprimeront en G2, avec une fréquence variable suivant le nombre de ces gènes et le taux d'autofécondation chez la plante mère G1.

Famille	VIGUEUR A 70 JOURS			VIGUEUR A LA FLORAISON	
	V1	V2	V3	mort/faible	dév. végétatif
H7	65	6	66	2	11
H1 + H2	75	39	133	53	-
autres	136	47	852	6	9
% (G1 totale)	19,0%	6,5%	74,1%	4,0%	1,5%

développement végétatif des hybrides G1
(effectif par famille: 150)

Famille	VIGUEUR A 70 JOURS			VIGUEUR A LA FLORAISON	
	V1	V2	V3	mort/faible	dév. végétatif
% (G2 totale)	15,0%	11,0%	74,0%	13,3%	5,0%

développement végétatif des hybrides G2
(Bulk et SSD confondus)
(effectif par famille: 188)

TABLEAU 16 : développement végétatif des hybrides

vigueur à 70 jours (parmi les plantes ayant fleuri):

V1- tallage normal, faible croissance en hauteur

V2- faible tallage, croissance normale

V3- développement normal

vigueur 12 semaines

après le début de l'épiaison: mort/faible :

nombre de plantes mortes
ou faibles n'ayant pas fleuri

dev. végétatif :

nombre de plantes vigoureuses
n'ayant pas fleuri 12 semaines
après la première épiaison

2. La vigueur végétative

2.1. le développement végétatif en G1

En G1, le remplacement des plantes mortes à la suite d'une attaque de pourriture du collet, se traduit par un étalement des notes de vigueur attribuées 70 jours après le semis (TABLEAU 16). Ce retard est en revanche rattrapé au moment de la floraison. Seule la famille 7, particulièrement tardive, montre un nombre important de plantes vigoureuses n'ayant toujours pas fleuri 12 semaines après les premières épisaisons de l'essai.

On observe également un taux exceptionnellement élevé de plantes faibles parmi les familles H1 et H2 : un grand nombre de plantes appartenant à ces 2 familles ont été attaquées par une maladie, probablement une bactériose due à *Xanthomonas campestris pv. oryzae*, dès le début du tallage. Cette maladie entraîne la mort ou ralentit le développement de la plante si elle apparaît tôt. Lorsque les symptômes apparaissent sur un individu déjà développé, elle se propage lentement et ses dégâts sont moindres (cas des individus appartenant aux autres familles). Si on ne tient pas compte des familles H1, H2 et H7, le nombre de plantes n'ayant pas atteint la floraison apparaît infime.

2.2. le développement végétatif précoce en G2

En G2, aucune maladie n'est venue perturber le développement précoce des hybrides. On observe cependant un taux important de plantes faibles, au développement ralenti ou bloqué très tôt (TABLEAU 16). Cette faiblesse peut s'exprimer soit au niveau de la hauteur des plantes (certaines restent naines), soit au niveau du tallage. Elle concerne toutes les familles d'hybrides. Ainsi 13,3% des plantes sont mortes ou ont stoppé leur développement trop tôt pour parvenir à l'épisaison.

Chez les descendances de plantes G1 fertiles, le taux de plantes faibles varie suivant les familles, mais peut concerner jusqu'à 60% des plantes d'une descendance.

Ce phénomène provient probablement de gènes récessifs létaux d'*O. longistaminata* (en G1, leur expression était masqué par le génome d'*O. sativa*). L'observation d'une forte dépression chez les descendances en autofécondation d'*O. longistaminata* ou de plantes *Obake* confirme l'existence chez cette espèce d'un fardeau génétique important (GHESQUIERE, 1988).

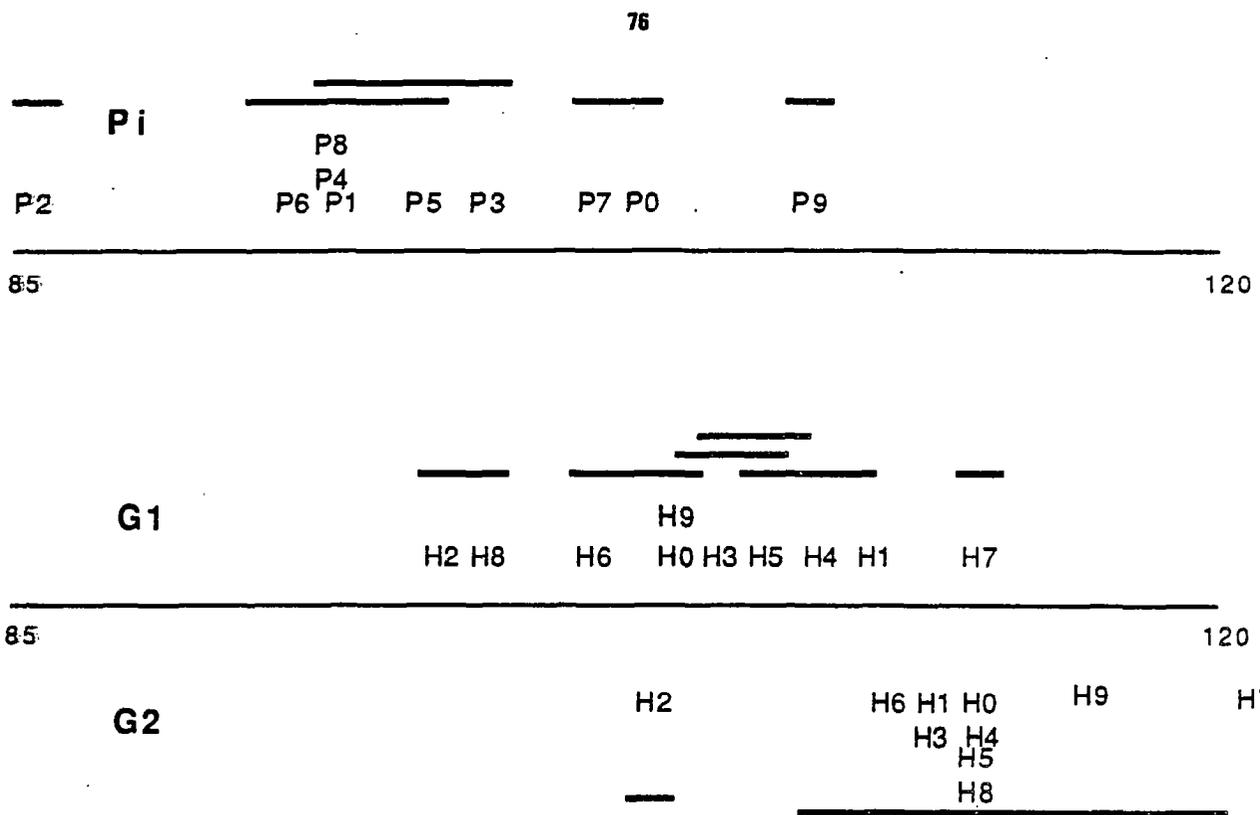


FIGURE 5 : test de comparaison de la précocité des familles d'hybrides et des variétés parentales

(test de Newman et Keuls, seuil 5%)

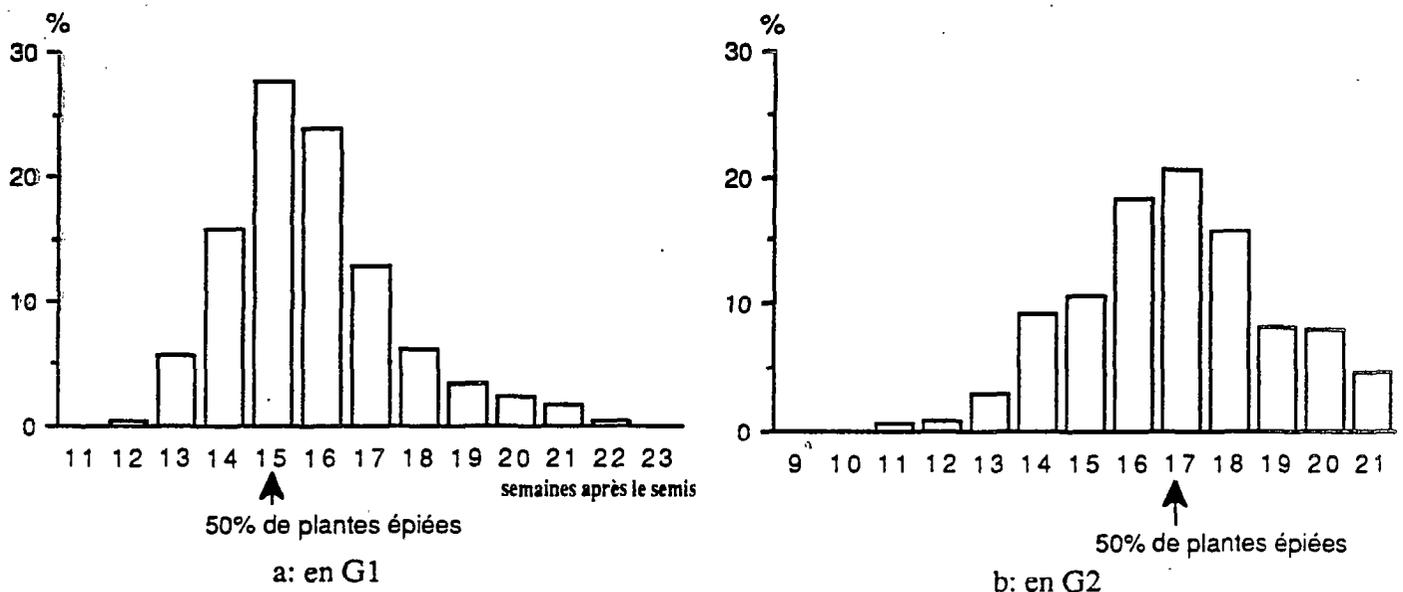
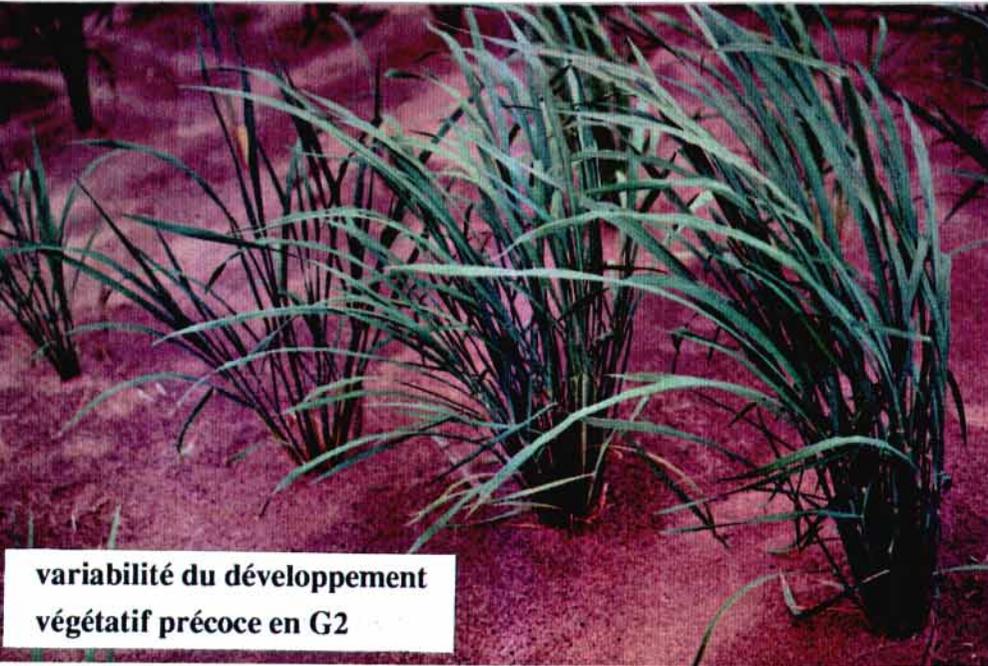


FIGURE 6 : étalement des dates de première épiation dans les populations G1 et G2



la pépinière de l'essai G2

LE DEVELOPPEMENT VEGETATIF DES HYBRIDES



variabilité du développement
végétatif précoce en G2



une plante faible



une plante au port prostré

C - La fertilité des hybrides

1. La floraison

1.1. la précocité

De trop grands écarts de précocité entre les familles risquent d'empêcher le recouvrement des périodes de floraison et de limiter les possibilités de brassage entre familles.

Le cycle des variétés parentales présente une grande diversité. La variété P2, très précoce fleurit en 85 jours et s'oppose à P0, P7 et P9 qui fleurissent après plus de 100 jours (FIGURE 5).

La FIGURE 6 montre les distributions des dates de première épiaison en G1 et G2. En G1, 50% des plantes ont épié 15 semaines après le semis; en G2, l'initiation de la floraison est plus étalée et il faut attendre la 17^e semaine pour atteindre le même résultat. Les différences de date de première épiaison peuvent être en partie attribuées aux différences de date de mise en place des deux essais (voir ANNEXE I), les conditions de photopériodisme et de rayonnement étant distincts d'un essai à l'autre.

Chez les hybrides, les différences entre les familles s'atténuent, bien que la famille 2 reste caractérisée par sa précocité (FIGURE 5). En G2, du fait de l'importante variance intra-famille le test de comparaison des moyennes familiales ne permet d'individualiser que cette famille, tandis qu'en G1 trois groupes sont mis en évidence.

1.2. l'étalement de la floraison

Les variétés de riz pluvial sont caractérisées par une production de panicules faible et groupée dans le temps (ANNEXE III). Seule la variété P7 se distingue des autres variétés parentales par son important tallage fertile (89 panicules émises en quatre semaines alors que les autres cultivars produisent dans le même temps de 13 à 30 panicules).

La plante *Obake* UL16.6 présente un comportement totalement différent d'*O. sativa* : elle émet rarement plus de deux panicules par semaine, mais sa production est continue et peut durer plusieurs mois.

La FIGURE 7 compare la production hebdomadaire de panicules des parents et des hybrides. Tandis que chez les parents la floraison est principalement limitée aux deux premières semaines, les hybrides G1 sont caractérisés par un tallage initial très important, mais également peuvent émettre

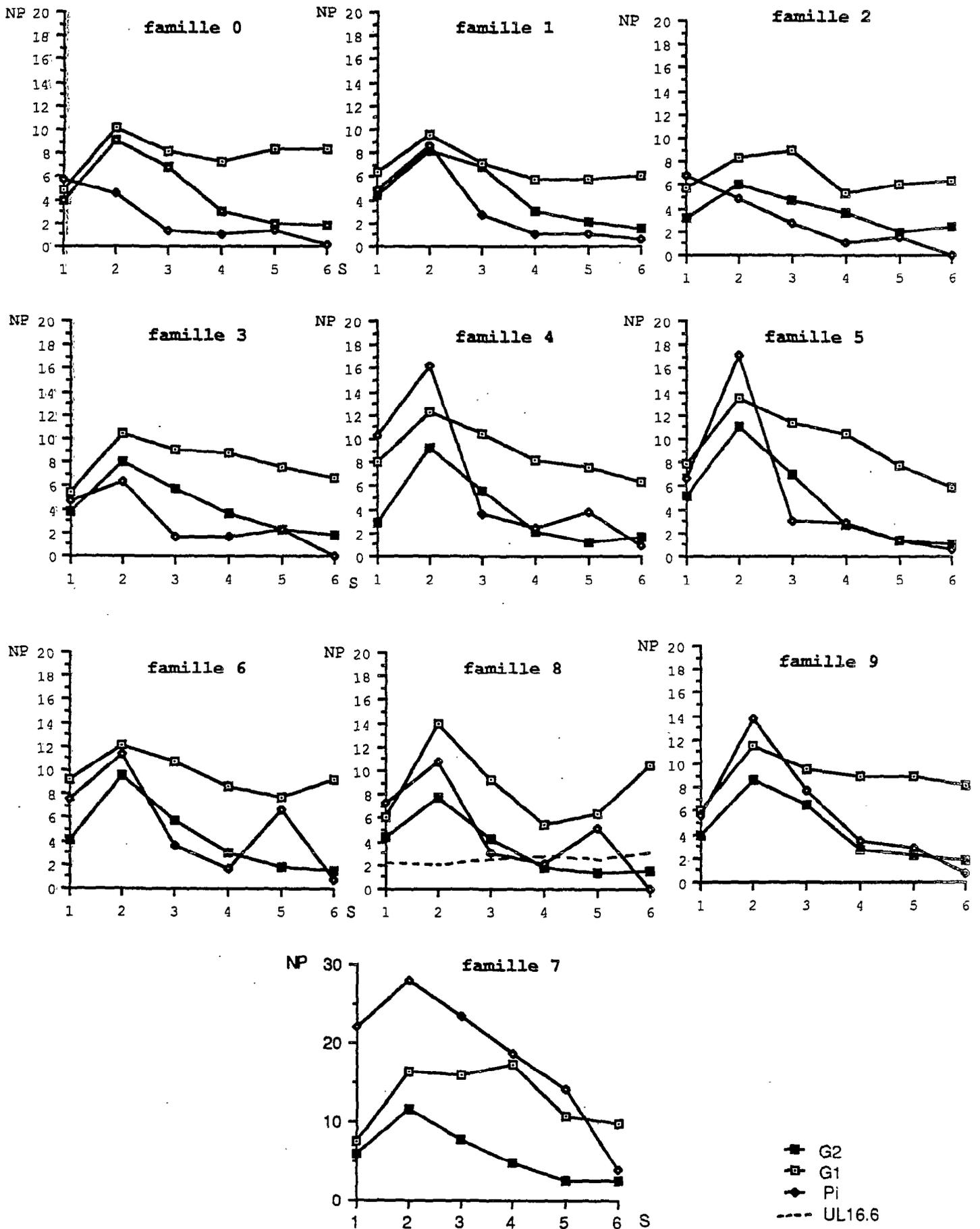


FIGURE 7 : nombre moyen de panicules (NP) émises par semaine (S) durant les 6 premières semaines après l'épiaison

de nouvelles panicules de façon continue, par ramification aérienne. Les ramifications proviennent de la différenciation d'un bourgeon nodal dormant. La dominance apicale est levée très tôt et concerne dans un premier temps les nœuds basaux, mais on peut observer des ramifications jusqu'au second nœud sous-paniculaire. Ce comportement est également observé chez *O. perennis* (BARBIER, 1987), et présente une intensité variable suivant la pérennité des plantes. Cette aptitude est plus limitée chez les hybrides G2, ceux-ci présentant un comportement intermédiaire entre les parents et les hybrides G1.

L'étalement de la floraison chez les hybrides entraîne un meilleur recouvrement des périodes de floraison et augmente les chances d'intercroisement entre plantes de précocités différentes. La forte production de panicules par plante, particulièrement chez les hybrides de première génération, est un des facteurs qui permet de compenser leur haut niveau de stérilité et de récolter au moins quelques graines par plante.

2. Les composantes de la fertilité

2.1. la qualité de la floraison

En G1, les plantes présentent fréquemment des défauts de floraison de différents types :

- absence d'ouverture de certains épillets;
- étalement de la floraison au sein d'une même panicule;
- mauvaise fermeture des épillets après la floraison.

Ces défauts apparaissent liés au type d'étamines (FIGURE 8), et de ce fait à la stérilité des plantes. Le type d'étamine est ici jugé suivant l'aspect des anthères (grosesse, couleur, déhiscence), la note 1 est attribuée lorsqu'on observe soit une faible quantité de pollen par anthère, soit l'indéhiscence des anthères.

En G2, le pourcentage de plantes présentant une floraison homogène et des étamines normales augmente, mais un tiers des plantes présente toujours des défauts de floraison.

2.2. la fertilité pollinique

La mesure de la fertilité pollinique repose sur un test de colorabilité du cytoplasme du pollen et non de viabilité; les deux résultats semblent cependant fortement corrélés (ALEXANDER, 1969).

Les distributions de la fertilité pollinique à chaque essai sont présentées à la FIGURE 9.

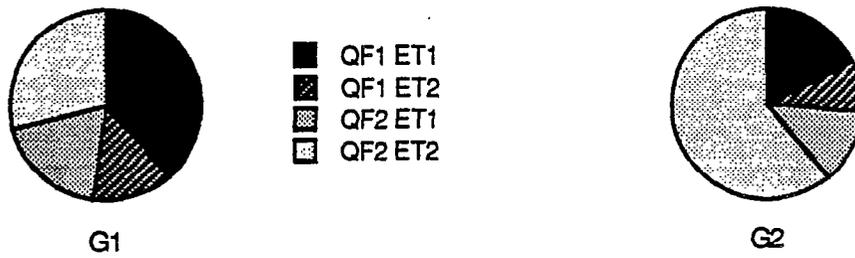


FIGURE 8 : distributions conjointes des notes de qualité de floraison (QF) et de type d'étamines (ET)

la note 1 correspond à des défauts de floraison ou de développement des anthères

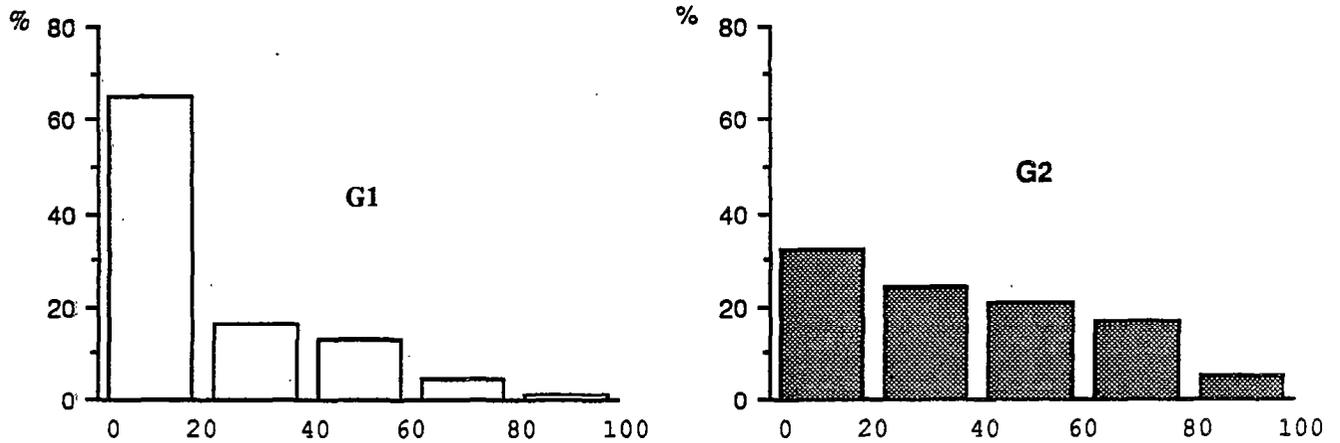


FIGURE 9 : distributions de la fertilité pollinique en G1 et G2

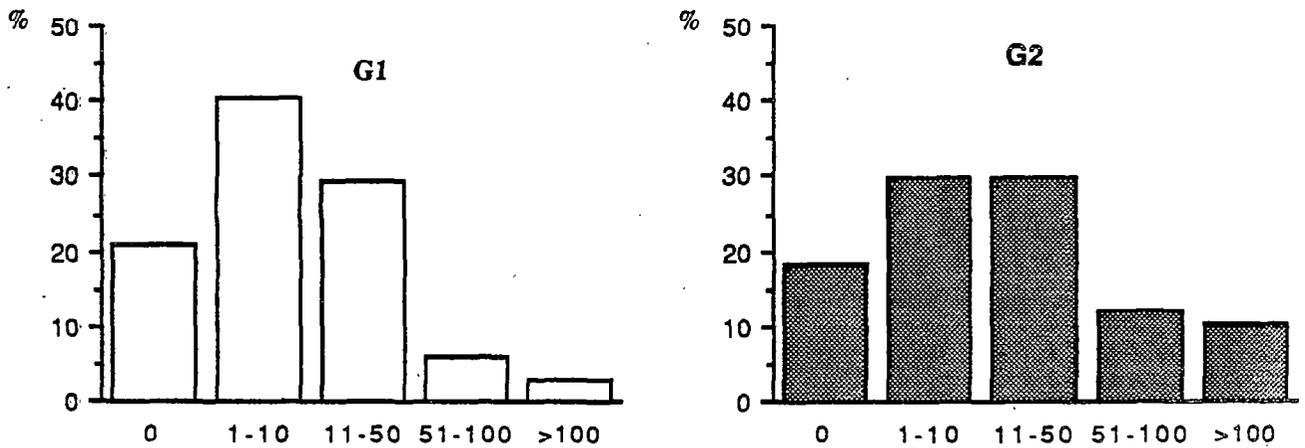


FIGURE 10 : distributions du nombre de graines par plante en G1 et G2

Le niveau de fertilité en G1 est extrêmement faible, 65% des plantes ont une fertilité inférieure à 20%, valeur que l'on peut considérer comme non fécondante. La moyenne sur la population totale est de 18%. On observe cependant une grande diversité, quelques plantes présentant une fertilité mâle convenable (5% de plantes dont la fertilité pollinique est supérieure à 60%).

En G2, on observe une restauration partielle de la fertilité (la moyenne globale est de 37%) : il n'y a qu'un tiers des plantes qui ont une fertilité inférieure à 20% et un cinquième présentent des valeurs supérieures à 60%. Enfin, aucune différence entre les distributions familiales n'est mise en évidence, chacune possédant quelques plantes fertiles : ainsi, même si ce ne sont que ces quelques plantes qui participent à la pollinisation, la probabilité de polliniser sera sensiblement la même pour chaque famille.

2.3. la production de graines

La fertilité femelle est estimée par le nombre total de graines récoltées sur chaque plante (NGR), quel que soit le nombre de panicules émises. Du fait de l'égrenage général, la récolte est manuelle et hebdomadaire; on peut cependant prévoir une certaine perte. Les oiseaux interviennent également pour réduire le nombre de graines récoltées sur les plantes les plus fertiles. La variable NGR est donc un indicateur minimal de la fertilité femelle des hybrides, elle est transformée en variable qualitative, comprenant 5 classes (aucune graine récoltée, de 1 à 10, de 11 à 50, de 51 à 100 ou plus de 100).

Les distributions, en G1 et G2, du nombre de graines pour les plantes ayant fleuri sont présentées sur la FIGURE 10. On observe, comme pour la fertilité pollinique, un faible niveau de fertilité en G1 et une amélioration en G2 : sur chaque plante ayant produit des graines, on récolte en moyenne 20 graines en G1 et 47 en G2 (pour un nombre de panicules et d'épillets variable suivant les plantes).

On peut remarquer, cependant, que les proportions de plantes sur lesquelles aucune graine n'a été récoltée sont sensiblement équivalentes pour les deux générations et relativement faibles (environ 80% des plantes pourront contribuer à la génération suivante).

Le test d'hétérogénéité des distributions met en évidence des différences entre les familles à chaque génération (ANNEXE IV).

fertilité (NGR) en G1	0	1-3	4-10	11-20	21-40	40-100	>100
% de plantes G1	20	25	15	16	12	9	3
% de descendants en G2	SSD	-	27,2	29	21,8	16,3	5,5
	Bulk	-	9,3	13,5	19,4	32,4	25

TABLEAU 17 : contribution des plantes G1 à la G2 suivant leur fertilité
(les pourcentages sont estimés pour le Bulk à partir de la fertilité moyenne de chaque classe)

2.4. relation entre la fertilité pollinique et la fertilité femelle

Les corrélations entre la fertilité pollinique et la production de graines au champ sont faibles : $r = 0,31$ en G1 et $r = 0,29$ en G2.

Les plantes jugées les plus fertiles (sur la base de leur production de graines en fécondation libre) ont été transplantées en serre et leur fertilité en autofécondation (FAF) a été estimée par ensachage des six premières panicules. Une liaison est mise en évidence entre les deux variables, mais elle reste faible ($r = 0,41$ en G1 et $0,40$ en G2). Par ailleurs, certaines de ces plantes présentent de faibles valeurs pour les deux variables : le choix des plantes étant réalisé sur la base de la production grainière, ces plantes ont pu être sélectionnées car, situées à proximité d'un pollinisateur fertile, elles avaient produit beaucoup de grains.

3. Efficacité de la sélection précoce sur la fertilité

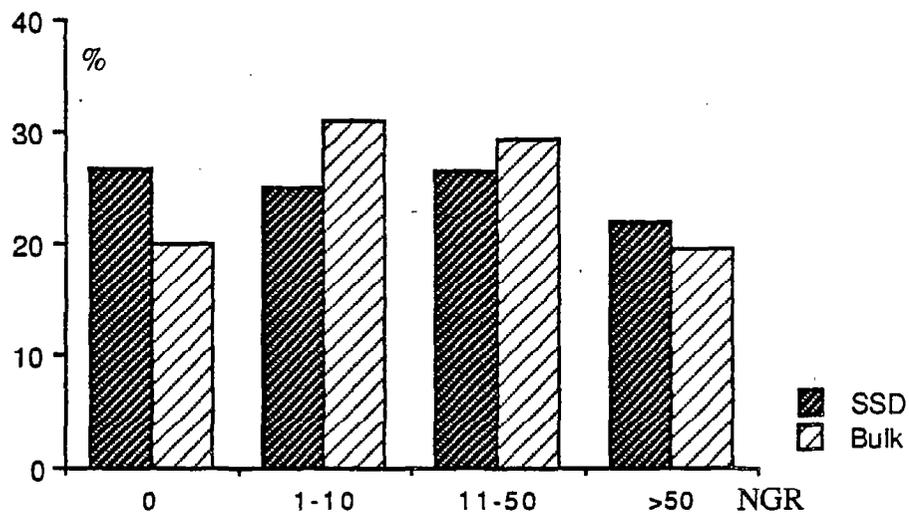
3.1. contribution des plantes G1 à la G2

En G1, il a été choisi de ne réaliser aucune sélection basée sur des caractères morphologiques, afin de conserver le maximum de variabilité. Etant donné la grande diversité des niveaux de fertilité, différentes méthodes de passage à la génération suivante ont pu être envisagées, suivant le niveau où un contrôle des effectifs est établi :

- aucune structure n'est conservée : toutes les graines sont mélangées et X descendants sont semés. Il s'agit de la "Bulk Method" au sens strict.
- la structure en familles équilibrées est maintenue, mais au sein de chaque famille les graines sont tirées au hasard parmi un mélange : on sème $X = 10 \times Y$ graines
- on conserve la structure en famille et on prélève sur chaque plante G1 (ou sur un nombre limité N) un effectif constant de graines (Z), de sorte que $X = 10 \times N \times Z$.
Si $Z=1$, cette méthode équivaut à la Single Seed Descent.

Les contributions de chaque famille au pool de graines récoltées varient de 5% à 14%. De ce fait, la première méthode envisagée risquait d'induire très tôt des déséquilibres au niveau de la représentation de chaque famille. La relation entre la fertilité familiale en G1 et celle en G2 étant inconnue, il a été choisi de conserver une structure équilibrée en familles et de comparer les deux dernières méthodes citées.

Ces deux méthodes diffèrent essentiellement par la contribution des plantes G1 : si chaque plante contribue de la même manière (au niveau maternel) à la SSD, la méthode Bulk favorisera les



**FIGURE 11 : comparaison des distributions du nombre de grains (NGR)
récoltés par plante en SSD et Bulk
($X_2 = 13,34^{**}$)**

descendances des plantes les plus fertiles. Le TABLEAU 17 compare les contributions maternelles des plantes G1 à la G2 suivant leur fertilité : ainsi, en Bulk, 50% des plantes proviendront de plantes ayant produit au moins 40 graines en G1 (soit seulement de 12% des hybrides G1) tandis qu'en SSD, ces 12% ne participeront qu'à 22% des hybrides G2.

Si l'augmentation de la fertilité en G1, exprimée en nombre de graines récoltées par plante, correspond à un meilleur niveau d'autofertilité, la méthode SSD fournira une part plus importante de plantes issues d'allopollinisation que la méthode Bulk.

3.2. comparaison de la fertilité des hybrides issus de SSD et de Bulk

On n'observe pas de différence significative entre les deux méthodes en ce qui concerne la fertilité pollinique; en revanche, les distributions des nombres de grains récoltés par plante sont différentes (FIGURE 11). On récolte en moyenne 34 graines par plante en Bulk et 43 en SSD. La sélection apparemment réalisée en Bulk n'entraîne donc aucun accroissement de la fertilité des descendants.

Bien que le Bulk ait été favorisé par le choix des graines semées et des plantes repiquées, les 2 parcelles présentaient une différence de vigueur générale, la SSD s'étant mieux implantée : 16% des plantes ont été jugées faibles en Bulk, ce taux étant de 11% en SSD. Un effet environnemental peut être en partie responsable de cette différence, mais d'autres phénomènes, liés au fardeau génétique d'*O. longistaminata*, qui apparaissent préférentiellement à la suite d'autofécondation, ont pu intervenir.

3.3. la restauration de la fertilité en G3

L'étude de la fertilité des descendances G3 est réalisée de façon plus précise qu'au cours des deux générations précédentes :

- la présence d'un filet supprime les dégâts causés par les oiseaux et réduit ceux dus au vent;
- l'autofertilité (FAF) est estimée par ensachage des 2 premières panicules de 15 plantes par descendance et est comparée à la fertilité en fécondation libre (FFL) des deux suivantes;
- Le nombre de grains récoltés par plante (NGR4) correspond au nombre de grains récoltés sur les 4 premières panicules et non plus à un nombre variable de panicules.

Le niveau moyen de fertilité femelle reste faible (FAF= 33% et FFL=37%), mais la fertilité pollinique moyenne (FPOL = 52%) et le nombre moyen de grains produits par plante (NGR4 = 203,5) sont nettement améliorés.

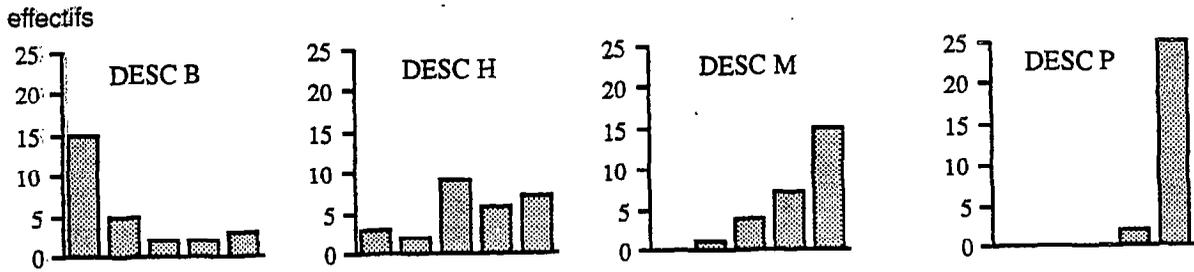


FIGURE 12 : distributions de la fertilité pollinique pour 4 descendance G3
(la fertilité pollinique est représentée par 5 classes d'amplitudes égales)

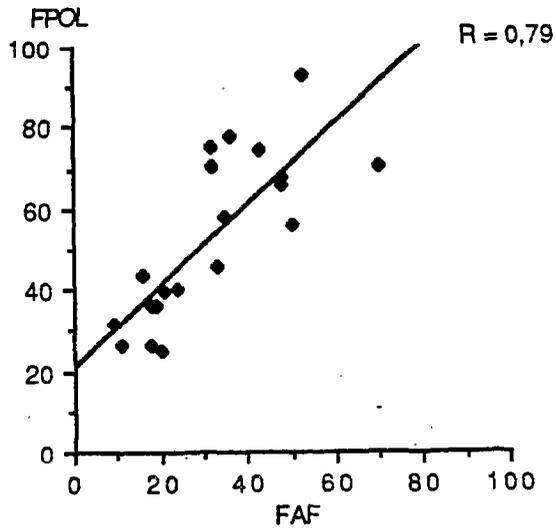


FIGURE 13 : relation entre la fertilité pollinique et la fertilité en autofécondation des descendance G3

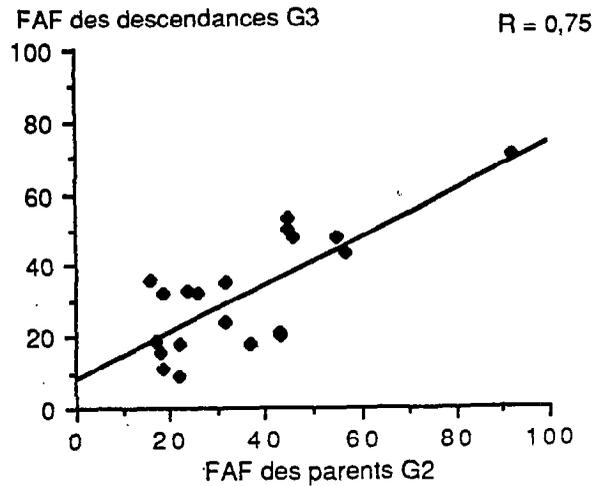
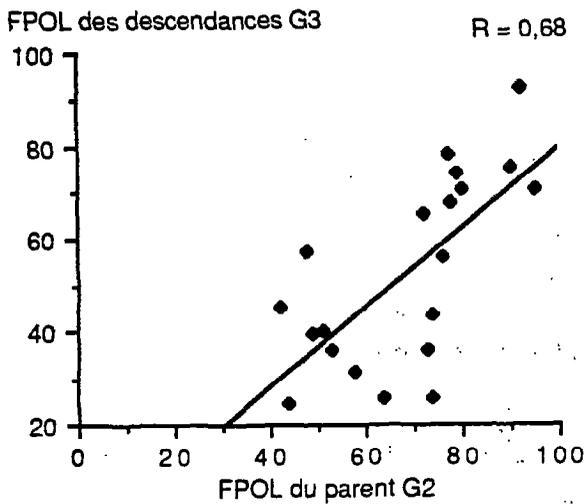


FIGURE 14 : relation entre la fertilité des parents G2 et la moyenne de leurs descendance G3

On retrouve cette amélioration au niveau de la qualité de la floraison et de l'aspect des étamines: 14 descendances ne présentent aucun défaut, et sur les 6 autres, la proportion de plantes jugées anormales est infime.

On observe une grande diversité des niveaux de fertilité tant entre les lignées qu'à l'intérieur de celles-ci : ainsi, si la fertilité d'aucune descendance n'est jugée identique à celle des variétés témoins, il existe un certain nombre d'individus dont la fertilité est totalement restaurée.

La relation négative entre la valeur moyenne de la fertilité pollinique des lignées et l'écart-type de cette valeur ($r = -0,89$) rend compte de l'existence d'individus fertiles même parmi les lignées stériles. La FIGURE 12 montre la distribution de la fertilité pollinique de quatre descendances présentant des fertilités moyennes variables. Même dans la descendance B, qui a la fertilité pollinique moyenne la plus faible, des individus fertiles sont observés.

Les corrélations entre les différentes variables sont également augmentées, particulièrement en ce qui concerne la relation entre fertilité pollinique et fertilité en autofécondation (FIGURE 13). La corrélation entre la fertilité pollinique et le nombre de grains récoltés passe de 0,31 et 0,29 pour les deux essais précédents à 0,47.

Enfin, les corrélations élevées entre les paramètres de la fertilité des individus G2 et la moyenne de leurs descendants G3 justifient, à ce niveau, de porter une attention particulière au choix des parents en G2 (FIGURE 14).

LOCUS	H0+3 t (s)	H2+4 t (s)	H6+8 t (s)	H5+9 t (s)	H7 t (s)	moyenne (s)	X2 (4 dl)
EST-B	1,217 (0,322)	1,193 (0,326)	0,746 (0,348)	1,514 (0,292)	0,916 (0,422)	1,165 (0,154)	3,26 NS
EP-A	1,027 (0,247)	0,864 (0,281)	0,835 (0,286)	1,277 (0,173)	1,273 (0,212)	1,124 (0,109)	3,30 NS
LAP-E	1,006 (0,221)	1,058 (0,205)	1,051 (0,205)	0,624 (0,308)	0,794 (0,110)	0,886 (0,098)	3,07 NS
CAT-A	0,501 (0,197)	0,7 (0,212)	-0,144 (0,210)	0,784 (0,230)	0,651 (0,279)	0,472 (0,102)	12,04 **
SDH-A	0,876 (0,212)	0,98 (0,210)	0,279 (0,155)	0,884 (0,217)	0,22 (0,173)	0,563 (0,087)	15,6 ***
PGD-A	-2,1 (0)	1,023 (0,176)	0,997 (0,173)	0,718 (0,158)	0,827 (0,192)	0,891 (0,088)°	2,24 NS°
MOYENNE	0,863 (0,109)	0,96 (0,098)	0,584 (0,097)	0,952 (0,096)	0,747 (0,103)	moyenne globale: 0,82	
X2 (5dl)	5,43 NS °°	2,49 NS	27,78 ***	11,19 *	16,04 ***		

a: estimations de t en G1 à partir des fréquences observées en SSD

° : en éliminant l'estimation pour H0+3 (X2 à 3 dl)

°°: en éliminant l'estimation pour PGD (X2 à 4 dl)

LOCUS	H0+3 t (s)	H2+4 t (s)	H6+8 t (s)	H5+9 t (s)	H7 t (s)	moyenne (s)	X2 (4 dl)
EST-B	0,997 (0,365)	-0,033 (0,434)	-0,045 (0,429)	1,786 (0)	0,999 (0,367)	0,564 (0,20)°	6,72 NS°
EP-A	0,365 (0,392)	0,919 (0,266)	1,122 (0,207)	1,149 (0,197)	1,122 (0,207)	1,04 (0,118)	3,78 NS
LAP-E	0,495 (0,381)	0,932 (0,279)	0,535 (0,373)	-1,041 (0,490)	0,731 (0,110)	0,662 (0,157)	13,72 ***
CAT-A	0,137 (0,257)	0,52 (0,277)	-0,464 (0,245)	0,379 (0,257)	0,561 (0,300)	0,184 (0,120)	10,65 *
SDH-A	0,54 (0,228)	0,747 (0,239)	0,496 (0,224)	0,526 (0,228)	0,473 (0,219)	0,551 (0,102)	0,87 NS
PGD-A	1,068 (0,190)	0,836 (0,182)	0,948 (0,190)	0,45 (0,164)	0,123 (0,130)	0,579 (0,077)	25,2 ***
MOYENNE	0,667 (0,109)	0,751 (0,118)	0,58 (0,119)	0,569 (0,109)	0,574 (0,098)	moyenne globale: 0,63	
X2 (5dl)	10,65 NS	4,99 NS	31,04 ***	20,53 ***	22,54 ***		

b: estimations de t en G1 à partir des fréquences observées en BULK

° : en éliminant l'estimation pour H5+9 (X2 à 3 dl)

TABLEAU 18 : estimations de t en G1 locus par locus à partir des fréquences observées en SSD et en Bulk; test d'hétérogénéité des estimations entre les groupes d'hybrides et entre les loci

D - Les taux d'intercroisement

Malgré le niveau élevé de stérilité, particulièrement en G1, nous avons vu qu'il était possible de récolter suffisamment de graines pour assurer le passage à la génération suivante sans réduire considérablement le pool des géniteurs.

Si *O. sativa* est totalement autogame, *O. longistaminata*, espèce autoincompatible, présente un certain nombre de caractères floraux qui favorisent son allogamie. L'hybridation entre ces deux espèces permet donc d'étudier l'influence de tels caractères sur le mode de reproduction des hybrides. Le suivi de l'allopollinisation parallèlement à la restauration de la fertilité, au cours des générations, est un moyen d'apprécier la stabilité du système de brassage mis en place.

1. Le taux d'intercroisement en G1

L'estimation du taux d'intercroisement en G1 repose sur l'observation des fréquences génotypiques en G2. On obtient deux groupes d'estimations suivant le bloc étudié. La SSD, empreinte de la diversité en G1, fournit une valeur du taux moyen de t en G1, tandis que les estimations faites à partir du Bulk traduisent l'importance de l'allopollinisation chez les plantes les plus fertiles. Les résultats sont présentés en regroupant les familles d'hybrides dont les géniteurs ont le même génotype aux loci étudiés.

1.1. les estimations locus par locus

Le calcul de t par la méthode du maximum de vraisemblance révèle un certain nombre d'estimations aberrantes, supérieures à 1 ou négatives (TABLEAU 18). Ces incohérences proviennent du non respect des hypothèses de la méthode :

- les fréquences alléliques du pool pollinique sont uniformément distribuées;
- la probabilité de s'intercroiser est indépendante du génotype maternel;
- il n'y a pas de sélection entre le croisement et la détermination des génotypes des descendants (BROWN *et al.*, 1978; CLEGG *et al.*, 1978).

La première condition dépend de l'indépendance entre la fertilité pollinique et le génotype des plantes. Les fréquences alléliques dans le pool pollinique ont été estimées à partir des fréquences globales observées en G2 en SSD. Or, nous verrons que des phénomènes sélectifs provoquent de fortes variations des fréquences alléliques par rapport aux fréquences attendues en G2. Si les fréquences familiales s'éloignent trop des fréquences globales, les estimations seront biaisées. Par ailleurs, la randomisation totale des parcelles favorise l'homogénéisation du nuage pollinique.

	H0+3	H2+4	H6+8	H5+9	H7	moyenne (s)	X2 (4 dl)
I-c	0,311	0,602	0,483	0,487	0,581		
SSD							
Å/A	18/80	39/80	31/81	29/77	17/53		
tm (s)	0,723 (0,148)	0,810 (0,095)	0,792 (0,109)	0,773 (0,114)	0,552 (0,109)	0,735	3,80 NS
BULK							
Å/A	14/60	25/64	17/60	13/60	15/60		
tm (s)	0,750 (0,176)	0,649 (0,100)	0,587 (0,118)	0,445 (0,109)	0,430 (0,095)	0,542	4,86 NS

TABLEAU 19 : estimations multilocus de t en G1

Å : nombre de plantes issues d'intercroisement discernable parmi A plantes observées

En ce qui concerne les fréquences génotypiques maternelles, nous avons conservé les fréquences théoriques, ne pouvant estimer les fréquences "efficaces" réelles. La validité de ces fréquences dépend du respect de la troisième condition; or nous avons déjà observé l'existence d'un certain nombre de facteurs sélectifs (intervenant au niveau de la germination et du développement végétatif).

Les tests d'hétérogénéité des estimations mettent en évidence quelques différences (TABLEAU 18), provenant des valeurs aberrantes : lorsque ces valeurs ne sont pas prises en compte, les différences ne sont plus significatives. KAHLER *et al.* (1975) ont souligné que si l'indépendance entre le génotype maternel et la probabilité d'intercroisement n'est pas respectée, les estimations varient d'un locus à l'autre.

Le locus CAT fournit des estimations très variables : pour les familles issues de variété CAT-A2A2 (H0+3 et H6+8), la fréquence des hétérozygotes n'est pas modifiée par t : l'estimation correspond à la différence entre les fréquences des deux génotypes homozygotes et se traduit par une valeur négative dès que CAT-A1A1 est plus rare. Notons enfin que les faibles effectifs intragroupes se traduisent par d'importantes variances des estimations. Ces variances diminuent chez les loci où 3 allèles sont individualisés (SDH, PGD).

Les estimations moyennes, par locus ou par groupe, sont calculées en supprimant les valeurs les plus incohérentes (TABLEAU 18). Ces valeurs, plus précises pour chaque groupe d'hybrides, révèlent l'importance de l'allopollinisation dans la production de graines en G1 : en SSD, en moyenne 82% des graines proviennent d'intercroisement et en Bulk, ce taux demeure important puisqu'il est estimé à 63%.

1.2. les estimations multilocus

Les estimations sont réalisées à partir de 3 à 5 loci suivant les familles. Le facteur correctif (1-c) augmente avec le nombre de loci en jeu et avec le nombre d'allèles par locus; il dépend également des fréquences alléliques (SHAW *et al.*, 1981). Cette méthode fournit des estimations plus précises (de plus faibles variances) et est moins sensible au non respect des hypothèses initiales que l'estimation locus par locus (RITLAND et JAIN, 1981; SHAW *et al.*, 1981).

Bien que légèrement inférieures aux valeurs précédentes, les estimations pour chaque groupe d'hybrides restent élevées (TABLEAU 19). En moyenne, on retrouve le même écart entre les estimations de la SSD et du Bulk (la moyenne globale en SSD est de 73%, pour 54% en Bulk).

Aucune différence n'est mise en évidence entre les estimations des différents groupes.

LOCUS	Fam 0 t (s)	Fam 2 t (s)	Fam 4 t (s)	moyenne (s)	X2 (2dl)
EST-B	-0,035 (0,322)	1,216 (0,134)	0,106 (0,105)	0,492 (0,122)	45,34 ***
EP-A	0,307 (0,298)	0,551 (0,182)	0,598 (0,239)	0,519 (0,141)	0,64 NS
LAP-E	0,273 (0,266)	0,246 (0,365)	0,379 (0,152)	0,340 (0,159)	0,19 NS
CAT-A	0,309 (0,158)	0,586 (0,272)	0,94 (0,182)	0,582 (0,121)	6,86 ***
SDH-A	0,455 (0,158)	0,18 (0,167)	0,188 (0,089)	0,240 (0,082)	2,32 NS
PGD-A	-0,932 (0,214)	0,462 (0,141)	0,021 (0,134)	0,031 (0,097)	29,45 ***
PGI-A	0,377 (0,122)	0,588 (0,192)	0,143 (0,077)	0,249 (0,080)	6,07 *
moyenne	0,208 0,345 °	0,635 0,438 °°	0,326	0,35	
X2 (6dl)	33,74 *** 2,08 ° NS	29,09 *** 3,97 °° NS	9,01 NS		
t multilocus	0,426 (0,044)	0,340 (0,032)	0,314 (0,030)	0,345	4,37 NS

TABLEAU 20 : estimations des taux d'intercroisement en G2 hétérogénéité entre les familles et entre les loci

° : en éliminant PGD-A (5dl)

°° : en éliminant EST-B (5dl)

	SSD		Bulk	
	A/A	tm	A/A	tm
FAM 0	17/53	0,321	32/62	0,516
FAM 2	25/79	0,316	24/65	0,369
FAM 4	32/116	0,276	39/110	0,354
TOTAL	74/248	0,298	95/237	0,401

TABLEAU 21 : comparaison des estimations de tm en G2 suivant les blocs

2. Le taux d'intercroisement en G2

En G2, le taux d'intercroisement est estimé par l'étude de familles de descendants pour trois familles d'hybrides.

2.1. les estimations

La méthode d'estimation locus par locus utilisée en G2 se rapproche plus que la précédente des méthodes généralement employées pour estimer le taux d'intercroisement dans les populations naturelles.

Connaissant les génotypes maternels (par l'étude de la génération précédente), les estimations seront moins biaisées qu'en G1 : les différentes fréquences nécessaires aux calculs sont estimées avec une meilleure précision. Le seul biais dans l'estimation provient du choix des plantes mères : un seuil de 12 graines produites est imposé, ne permettant pas de prendre en compte les plantes ayant produit moins de graines.

Le taux moyen d'allopollinisation apparaît considérablement réduit en G2 ($t = 35\%$). On observe encore, au niveau des estimations locus par locus, quelques valeurs aberrantes traduisant l'existence de phénomènes sélectifs (TABLEAU 20). L'estimation provenant du locus PGD-A, pour la famille 0, apparaît ainsi particulièrement anormale.

Les estimations multilocus faisant intervenir 7 loci simultanément, le facteur correctif (de l'ordre de 10^{-3}) n'est pas pris en compte. Les estimations varient de 31% à 43% suivant les familles. Les estimations multilocus apparaissent ici aussi plus précises et plus stables d'une famille à l'autre que celles réalisées pour chaque locus indépendamment.

La comparaison des valeurs estimées suivant que les plantes proviennent de Bulk ou de SSD montre que le taux d'intercroisement a été légèrement supérieur en Bulk (TABLEAU 21).

2.2. relation entre le taux d'intercroisement et la fertilité des plantes

Les estimations étant réalisées à partir de familles de descendants dont les plantes mères ont été étudiées au cours de la G2, on peut étudier la relation entre la fertilité de la plante mère et son taux d'intercroisement t_m , estimé sur sa descendance. La FIGURE 15 représente la relation entre t_m et la fertilité pollinique; il apparaît que, lorsque la fertilité est élevée (supérieure à 40%), la plante s'autoféconde préférentiellement, alors que, chez les plantes les plus stériles, le comportement est variable. L'absence de relation entre t_m et la production de graines montre qu'il est possible d'obtenir un nombre élevé de graines avec plus de 50% d'allopollinisation.

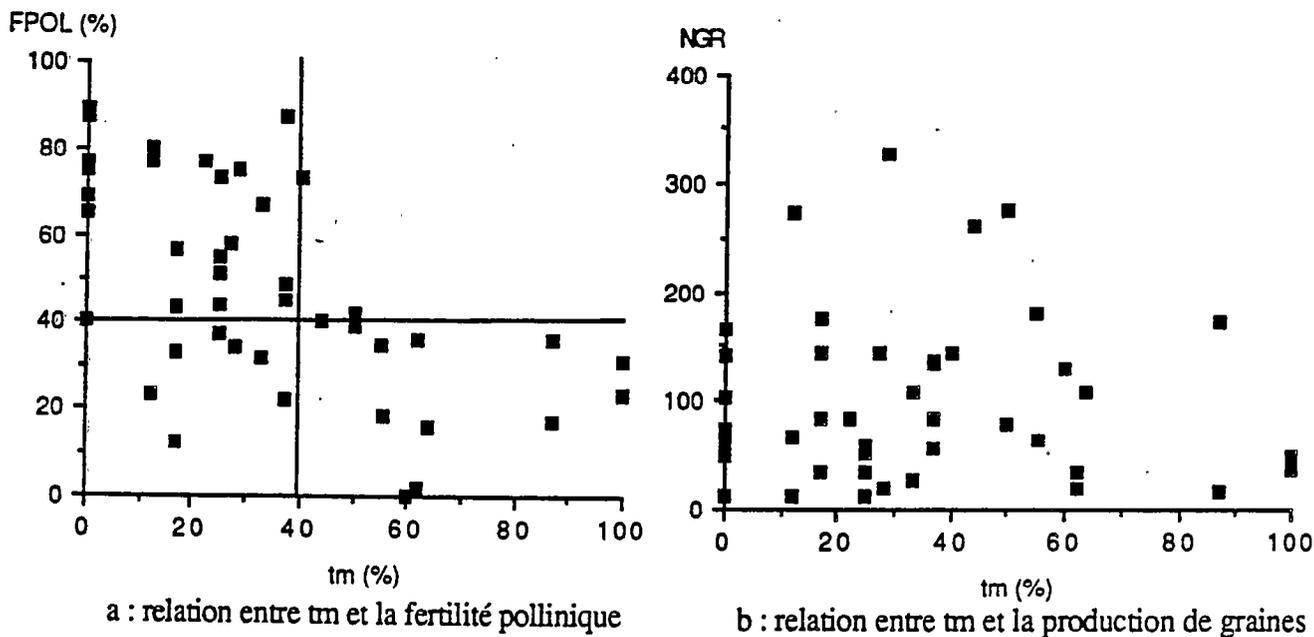


FIGURE 15 : relation entre le taux d'intercroisement et la fertilité en G2

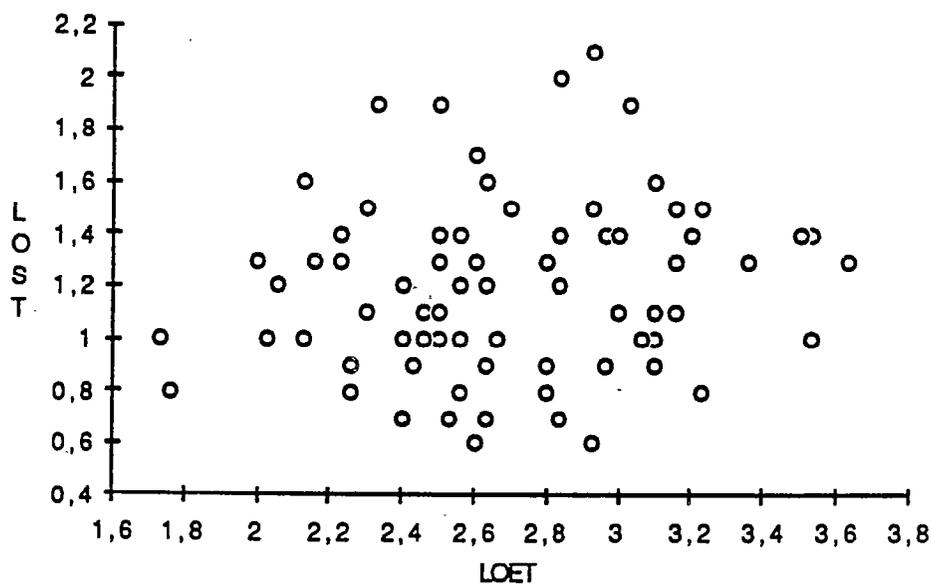


FIGURE 16 : diversité des longueurs de stigmates (LOST) et d'anthères (LOET) en G2

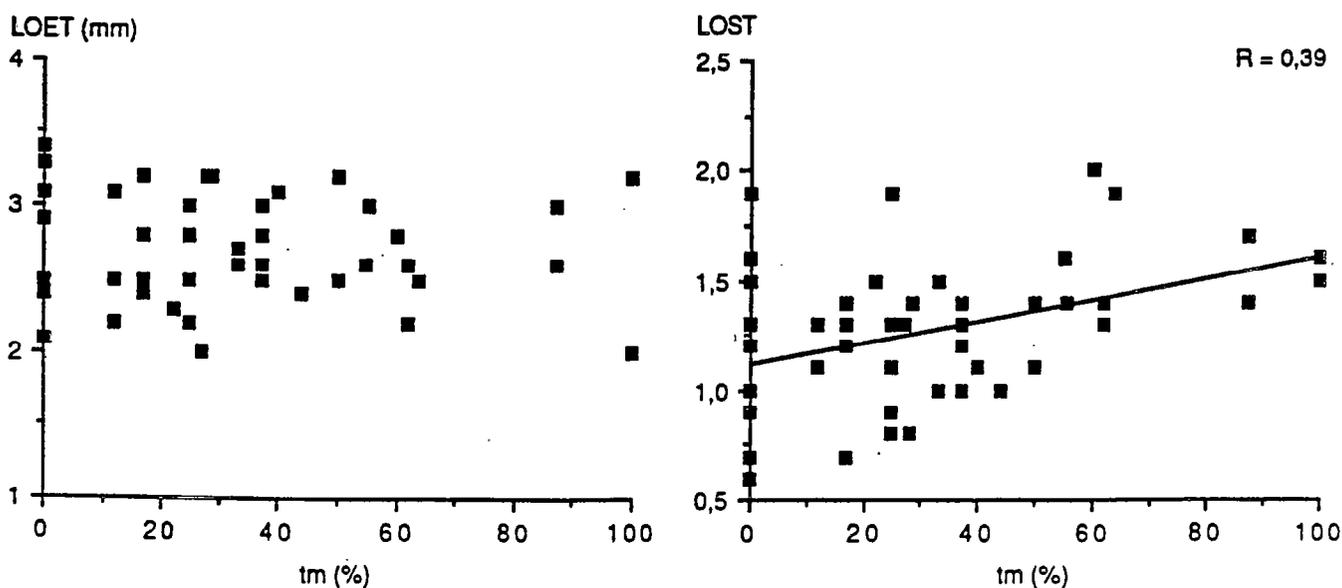


FIGURE 17 : relation entre le taux d'intercroisement tm, en G2,

2.3. relation entre le taux d'intercroisement et la structure florale

La structure florale intervient également dans l'allopollinisation, notamment au niveau de la réceptivité des stigmates. Celle-ci dépendra de leur longueur, mais aussi de la durée pendant laquelle ils sont exercés.

L'observation fine de 80 hybrides G2, a permis d'étudier la diversité des longueurs d'anthères et de stigmates dans la population (FIGURE 16). On observe une grande variabilité, les hybrides présentant des valeurs généralement supérieures à celles observées chez les variétés parentales. Ces deux caractères n'apparaissent pas corrélés, mais on observe une liaison significative entre longueur et exertion des stigmates.

La FIGURE 17 montre que les fortes valeurs de t_m sont obtenues chez les plantes possédant de longs stigmates. La valeur du coefficient de régression entre les deux variables est biaisé par l'existence de plantes dont l'estimation du taux d'intercroisement est nulle. Bien que le taux de stigmates exercés apparaisse lié à leur longueur, on n'observe pas de liaison entre t_m et cette exertion. La longueur des anthères, autre caractéristique d'*O. longistaminata*, n'influe pas non plus sur le taux d'intercroisement (FIGURE 17).

3. L'importance de l'intercroisement en G3

En G3, l'importance de l'allopollinisation est évaluée en comparant les niveaux de fertilité femelle en autofécondation et en fécondation libre. La FIGURE 18 représente la relation entre ces deux variables pour les valeurs moyennes des lignées. On observe une très faible différence quelle que soit la fertilité moyenne des descendance (cette différence varie de -1% à 14%), de même ampleur que celle observée chez les variétés témoins.

Si l'on tient compte du rang des panicules, exprimé par la différence de fertilité entre les 2 premières panicules et les 2 suivantes mesurées en fécondation libre, ce taux est légèrement accru, mais ne dépasse jamais 15%. L'allopollinisation semble donc jouer un rôle négligeable en G3.

CONCLUSION

Le suivi d'une population de back cross entre l'espèce allogame *O. longistaminata* et *O. sativa*, laissée en fécondation libre deux générations durant, a montré qu'il était possible de réaliser des opérations de brassage spontané, à grande échelle, malgré un niveau de fertilité initial très faible. Différents paramètres ont favorisé ou, au contraire, limité les chances d'intercroisements.

Des facteurs sélectifs, intervenant à différentes étapes du cycle, ont été mis en évidence. Le génotype du parent *Obake*, vis à vis des gènes responsables de la barrière reproductive influe sur la réussite des croisements et provoque l'élimination des gènes liés à D1. Le taux de germination des graines ainsi que l'apparition de plantes faibles dépendent également, en G2, du génotype des plantes mères. Les pertes consécutives réduisent la variabilité de l'échantillon des plantes qui participent à la reconduction des générations et provoquent un biais dans les estimations des paramètres intervenant dans le calcul du taux d'intercroisement.

Si la fertilité moyenne de la population G1 est très faible, elle présente une grande variabilité. Nous avons observé l'existence de quelques plantes fertiles, à chaque génération, qui sont à l'origine du nuage pollinique. Si on fixe un seuil à 60% de grains de pollen colorables, seules 5% des plantes G1 ont participé à la pollinisation (ce qui correspond à un pollinisateur tous les 10m²), ce taux s'élevant à 20% en G2. Les distributions familiales de la fertilité pollinique étant équivalentes, chaque famille participe équitablement à la pollinisation.

Les estimations du taux d'intercroisement concernent habituellement des populations naturelles uniformes (CLEGG et EPPERSON, 1985). HARDING et TUCKER (1969) et KAHLER *et al.* (1975) ont montré que des différences entre les fréquences génotypiques au stade adulte et les fréquence du pool pollinique provoquent un biais dans les estimations. L'existence de facteurs sélectifs se traduit généralement par des différences entre les estimations sur chaque locus (KESSELI et JAIN, 1985; SHAW *et al.*, 1981). La comparaison des estimations locus par locus aux estimations multilocus, plus robustes, permet de détecter la violation des hypothèses initiales (RITLAND et JAIN, 1981; SHAW et ALLARD, 1982; CLEGG *et al.*, 1978; BARBIER, 1987).

Nos résultats concernent une population artificielle, de fertilité hétérogène et soumise à différentes pressions de sélection. Malgré l'existence de certaines valeurs aberrantes, la cohérence des estimations moyennes du taux d'intercroisement locus par locus et multilocus nous portent à valider ces estimations. En G1, il apparaît qu'en moyenne 75% des graines sont issues d'intercroisement. Ce taux est considérablement réduit en G2, où il ne concerne que 35% des graines.

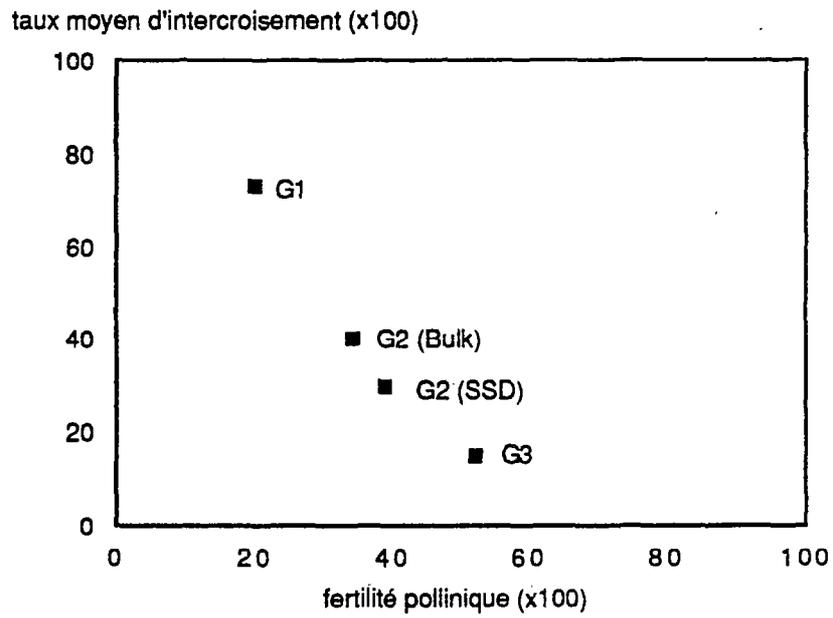


FIGURE 19: relation entre le taux moyen d'intercroisement et la fertilité pollinique moyenne à chaque génération

Le brassage entre les familles apparaît favorisé, en G1, par l'étalement de la floraison de chaque plante, du fait du tallage abondant. En G2, la floraison est plus groupée pour chaque individu, mais les différences de précocité moyenne entre familles sont atténuées par l'accroissement de la variabilité intra-famille.

L'allopollinisation dépend également de la structure florale. OKA et MORISHIMA (1967) ont considéré ce taux influencé par l'intervalle de temps entre la floraison et l'émission du pollen, la longueur des stigmates, le nombre et l'aptitude à la dissémination des grains de pollen. TAILLEBOIS et GUIMARAES (1987) ont mis en évidence l'importance de la longueur et de l'exertion des stigmates mais ont remarqué que le taux d'allopollinisation est indépendant de la longueur des anthères. XU et SHEN (1988) ont confirmé ce résultat et montré l'existence d'une corrélation entre longueur et exertion des stigmates.

Nos résultats concordent avec ces observations : dans la population G2, qui présente une grande diversité de longueur des organes reproducteurs, le taux d'intercroisement apparaît corrélé à la longueur des stigmates ($r=0,39$), mais indépendant de celle des anthères.

On observe, par ailleurs, une liaison nette entre le taux d'autofécondation et la restauration de la fertilité. Cette liaison s'exprime au niveau des individus G2 (lorsque la fertilité pollinique est supérieure à 40%, les individus s'autofécondent préférentiellement), mais peut aussi être étendue à la succession des trois générations étudiées (FIGURE 19).

La fertilité des plantes s'améliore en G2, bien que le niveau moyen demeure peu élevé (la fertilité pollinique moyenne passe de 18% en G1 à 37% en G2, et le nombre de graines récoltées par plante de 20 à 47). Les origines de cette stérilité et ses conséquences au niveau des recombinaisons intergénomiques seront envisagées dans la discussion générale.

La comparaison de la fertilité des plantes issues de Bulk et de SSD montre que la sélection de faible intensité sur la fertilité, réalisée en G1, est inefficace. En revanche, le choix des plantes les plus fertiles en G2 s'avère important pour restaurer la fertilité rapidement.

Si l'introgession d'*O. sativa* par *O. longistaminata* rend possible la réalisation d'opérations de brassage naturel, l'exploitation de populations d'hybrides interspécifiques, en vue de l'amélioration du riz, dépendra de la diversité morphologique générée par ces hybridations et des possibilités de retour vers un phénotype cultivé.

2°) L'UTILISATION D'*O. LONGISTAMINATA* COMME SOURCE DE VARIABILITE DANS L'AMELIORATION DU RIZ

En G1, la variabilité de la population provient d'une part de la diversité des géniteurs *O. sativa*, et d'autre part de la ségrégation gamétique de la plante *Obake*. Le passage aux générations ultérieures est l'occasion de recombinaisons plus complexes entre les génomes.

La diversité phénotypique des hybrides au cours des générations est étudiée suivant trois axes :

- évolution des types morphologiques en s'intéressant particulièrement à quelques caractéristiques de l'espèce sauvage apparues en première génération;
- évolution des structures familiales;
- mode de transmission des caractères et comparaison des différentes méthodes de reconduction des générations.

La diversité morphologique en G2 est présentée en détail sur l'échantillon issu de SSD; le bloc issu de Bulk n'intervient qu'au niveau de la comparaison des deux méthodes.

Un échantillon large portant sur 62 plantes de chaque famille à chaque génération est utilisé pour la description de la diversité des structures paniculaires et des principaux caractères morphologiques; ces plantes ont été choisies sur la base de leur vigueur à 70 jours. Un échantillon plus restreint comprenant, pour chaque famille, 38 hybrides G1 et 28 G2 est utilisé pour la description de la pérennité et l'analyse globale prenant en compte la fertilité des plantes. Les variétés parentales sont chacune représentées par 10 individus, étudiés au cours de l'essai G1.

En G3, chaque descendance comprend 60 plantes. Les études de ségrégation portent sur la totalité des plantes. Par contre, seules 27 plantes par lignée sont mesurées pour l'architecture paniculaire et la fertilité. L'observation des témoins a fait apparaître un gradient de terrain, perpendiculaire aux blocs et une forte interaction bloc x lignée. Il a donc été choisi de supprimer pour chaque descendance la moins bonne ligne; on perd ainsi l'information provenant des blocs, mais les valeurs des lignées apparaissent plus homogènes. Les quatre variétés témoins sont étudiées sur des effectifs identiques.

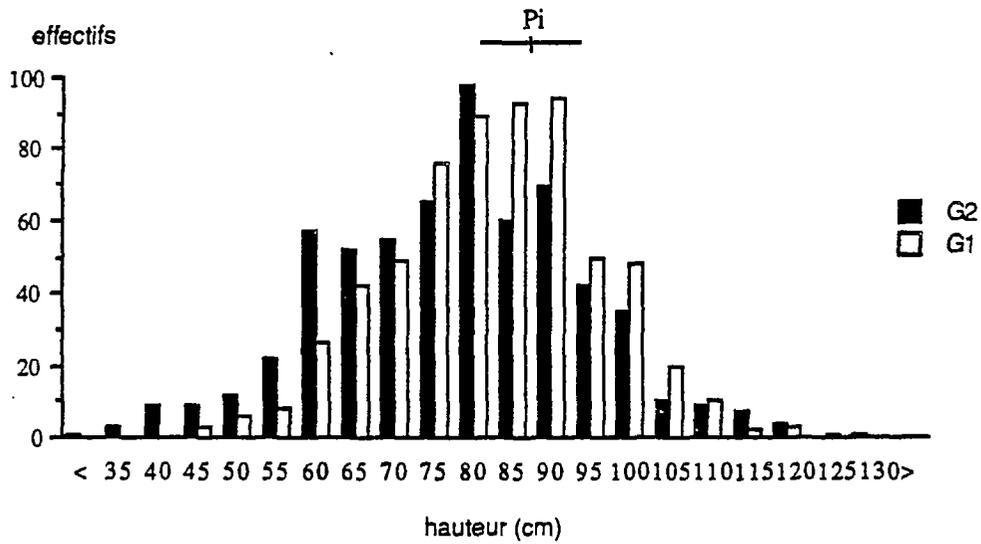


FIGURE 20 : distributions de la hauteur des hybrides en G1 et G2

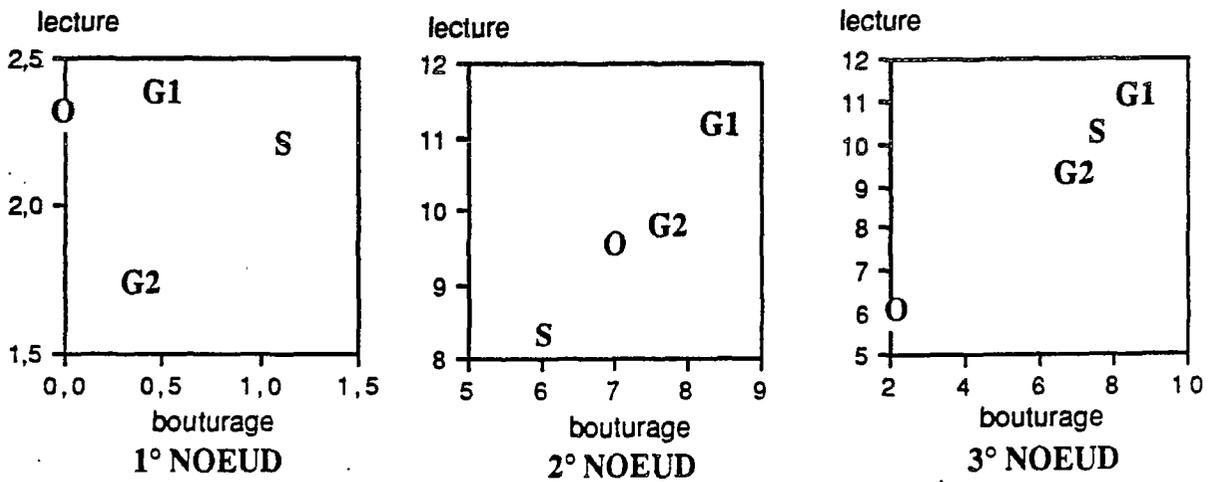


FIGURE 21 : évolution des notes moyennes de pérennité, attribuées au bouturage et à la lecture, suivant le rang des noeuds sur les figes (O : Obake; S: O.sativa; G1 et G2: moyenne des populations G1 et G2)

A - Importance du polymorphisme et évolution des types morphologiques

1. L'appareil végétatif

1.1. croissance et pérennité en G1 et G2

1.1.1. hauteur et port

Les plantes tant en G1 qu'en G2 présentent une grande diversité de hauteur, celle-ci variant de 30 cm à 1m 30 (FIGURE 20). Du fait du tallage important en G1, on observe fréquemment des individus au port ouvert. Il apparaît également un certain nombre de plantes au port totalement prostré, émettant leurs talles horizontalement, ceux-ci se redressant parfois à l'épiaison. Ce caractère, qui concerne 12% des hybrides en G1, et 9% en G2 n'est pas lié à leur vigueur.

1.1.2. tallage et pérennité

Dans la première partie, nous avons expliqué l'importance du tallage chez les hybrides, particulièrement en G1, par l'aptitude à émettre de nouveaux bourgeons au niveau des nœuds aériens. Le test de régénération à partir de boutures de nœuds constitue une autre approche de la pérennité. Les notes attribuées au bouturage traduisent l'état, ramifié ou non, des 3 nœuds apicaux un mois après la floraison, tandis que la note attribuée à la lecture rend compte de l'aptitude à émettre de nouveaux bourgeons ou de nouvelles racines.

La notation du premier nœud (le plus apical) correspond essentiellement à la présence ou la néoformation de racines. On observe une grande diversité d'états initiaux chez les variétés *O. sativa*, mais les variétés tendent à rejoindre un même niveau à la lecture. Chez les hybrides, la présence de racines développées dès le bouturage est rare, mais les individus G1, comme la plante *Obake*, émettent presque tous des racines rapidement. Ce développement racinaire apparaît indépendant de l'état au bouturage. En G2, cette aptitude est réduite (FIGURE 21).

L'observation des notes attribuées au second nœud met en évidence l'état peu ramifié des parents, opposé à celui des hybrides G1, qui, par ailleurs, montrent le développement le plus rapide de nouveaux bourgeons. Les variétés *O. sativa* sont plus ramifiées au niveau du troisième nœud, tandis que chez les hybrides G1, on n'observe pas de différence entre les seconds et troisièmes nœuds. En G2, on observe un comportement intermédiaire entre les hybrides G1 et les parents.

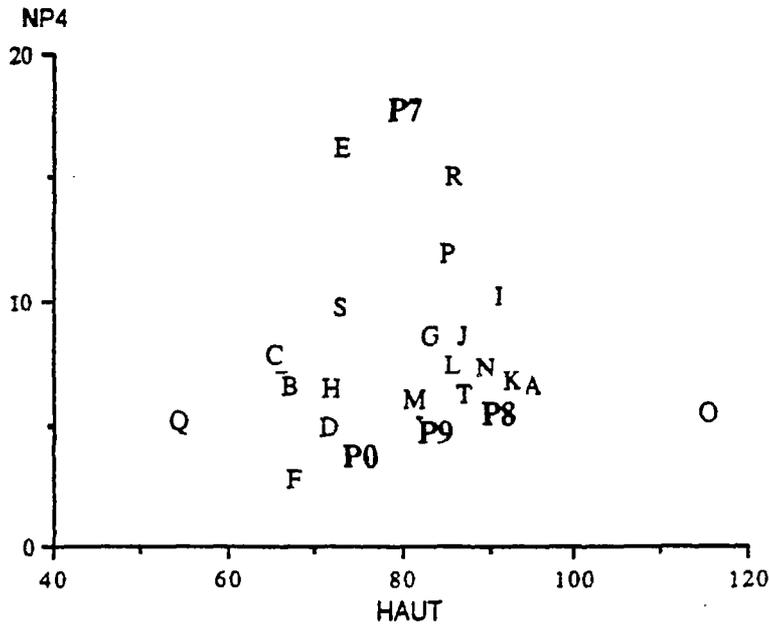


FIGURE 22 : relation entre la hauteur à maturité et la production de panicules en un mois chez les lignées G3 et les témoins

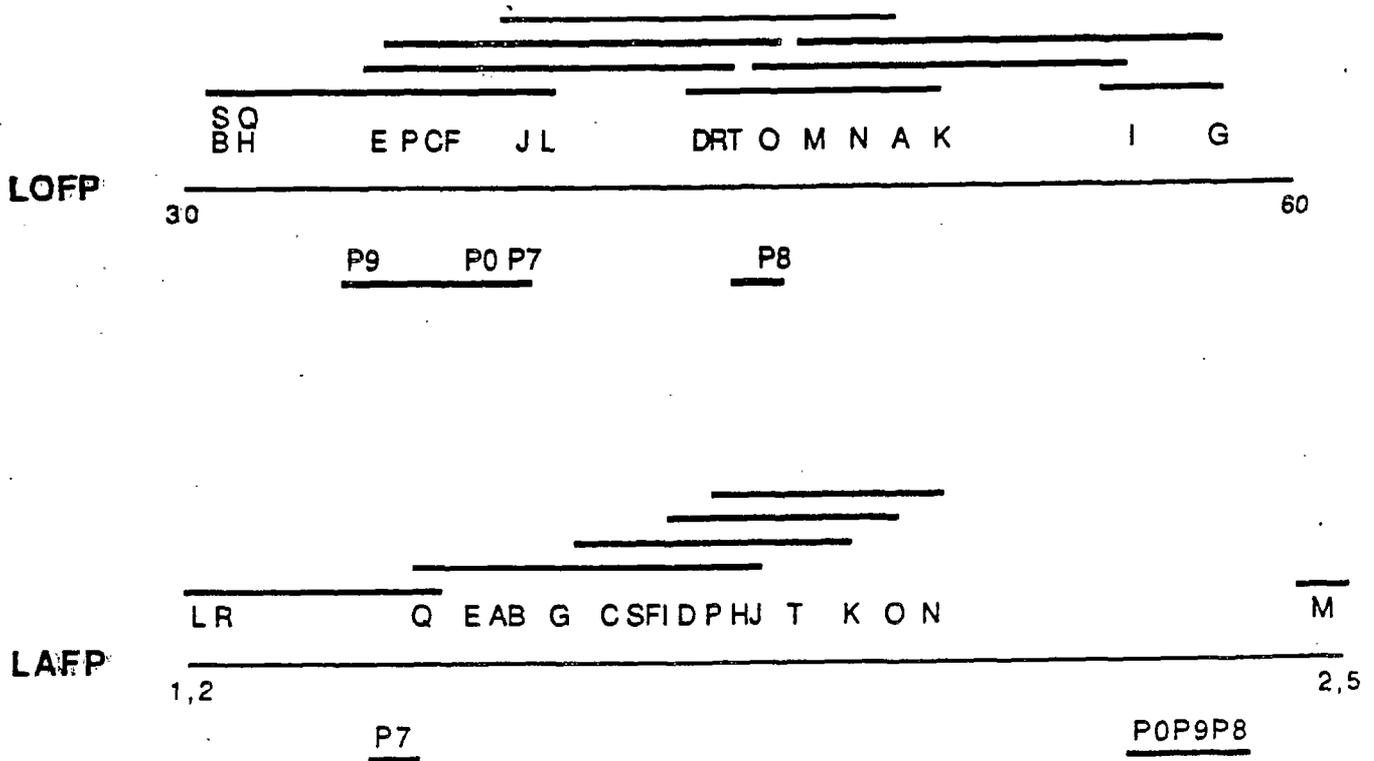


FIGURE 23 : comparaisons des moyennes des descendance G3 pour la longueur (LOFP) et la largeur (LAFP) des feuilles paniculaires comparaison aux témoins de l'essai

L'étude des corrélations entre les différentes variables met en évidence l'indépendance du premier nœuds vis à vis des 2 autres (ANNEXE V). Par ailleurs, chez les hybrides, les différentes notations n'apparaissent pas corrélées à la hauteur ou au tallage des plantes (SP4). L'état de ramification, noté au bouturage, n'apparaît corrélé qu'au nombre de panicules émises plus de quatre semaines après l'épiaison. La variable SP4 représente donc bien le tallage et non la pérennité.

1.1.3. absence de rhizomes

Aucun développement de rhizome n'a été observé au cours des trois générations étudiées. Ce résultat correspond à celui attendu d'après les résultats de GHESQUIERE (1988) : en effet, dès le premier back cross sur *O. sativa*, il n'observe plus de développement de rhizomes, en revanche ce caractère est totalement restitué dans le cas du back cross opposé sur *O. longistaminata*. Ce comportement le conduit à envisager une liaison stricte entre le caractère rhizomes et les gènes responsables de la barrière reproductive.

1.2. développement végétatif des descendances G3

La présence de quatre variétés parentales dans l'essai G3 permet de comparer le comportement des lignées à celui de témoins cultivés. La croissance en hauteur des hybrides apparaît proche de celle des variétés parentales en ce qui concerne les notations précoces. Une grande diversité de comportement est observé suivant les descendances, mais on observe une corrélation négative entre tallage et hauteur à 60 jours. A maturité, les moyennes des hybrides couvrent une plus grande étendue du fait de certaines lignées extrêmes telles que la O, particulièrement haute ou la Q, qui, très précoce a cessé sa croissance rapidement (FIGURE 22).

De même, les 20 descendances présentent en moyenne un tallage intermédiaire entre les variétés au faible tallage (caractéristique des riz pluviaux) et P7, au tallage exhubérant. Les deux caractères, tallage et hauteur, à maturité, apparaissent indépendants chez les hybrides, les descendances se répartissant entre les témoins (FIGURE 22).

1.3. format de la feuille paniculaire

Les variétés de riz pluvial sont caractérisées par une feuille paniculaire large, contrairement aux variétés *indica*. Les hybrides, en G1 et en G2, présentent une diversité importante de la forme du drapeau. Une liaison significative entre les notes de longueur et de largeur est mise en évidence. On retrouve cette diversité de formes chez les descendances G3, bien que les feuilles soient généralement en moyenne plus fines que celles des témoins P0, P8 et P9 (FIGURE 23).

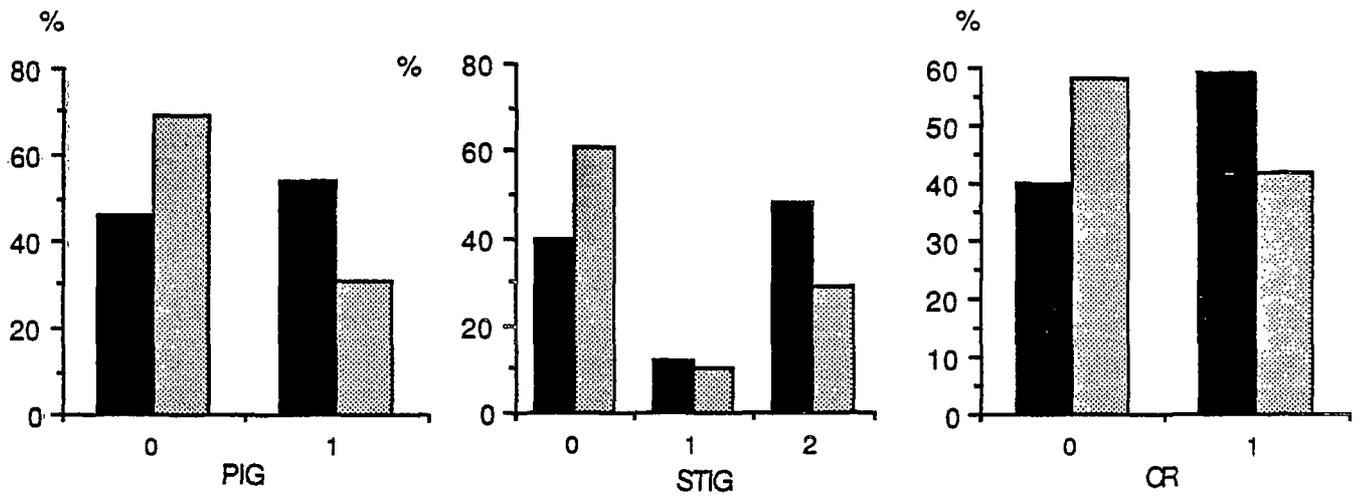


FIGURE 24 : distributions comparées des caractères de pigmentation en G1 et G2
 PIG : pigmentation du collet; STIG : pigmentation des stigmates; CR : pigmentation des arêtes

■ G1
 ▨ G2



QUELQUES TYPES DE PLANTES OBSERVES EN G1



1.4. les marqueurs de pigmentation

De nombreuses études se sont intéressées au déterminisme des marqueurs de pigmentation anthocyanée chez *O. sativa* (TAKAHASHI, 1982; KINOSHITA, 1984; pour synthèse). La pigmentation des différents organes est gouvernée par trois gènes complémentaires de base (A, C et P), chacun comprenant de nombreux allèles, associés à différents loci (20 loci de pigmentation différents ont été localisés dans le génome du riz). Par ailleurs, un grand nombre de gènes à l'action inhibitrice ou intensificatrice ont été répertoriés. Ces gènes sont dispersés sur différents chromosomes (SIDDIQ *et al*, 1985). KINOSHITA (1984) remarque également des différences alléliques et de localisation des gènes entre les types *indica* et *japonica*, les distorsions de ségrégation venant perturber l'interprétation de telles descendance.

En G1, les plantes apparaissent fortement pigmentées. Le déterminisme multigénique des différents marqueurs est confirmé par les ségrégations observées (ANNEXE VI). Les 7 familles issues de variétés ne présentant pas de marqueurs de pigmentation ne ségrègent pas de façon homogène, traduisant l'hétérogénéité des génotypes parentaux. On peut noter également l'hétérozygotie d'UL16.6 révélée pour chacun des caractères. Les différents marqueurs étudiés apparaissent fortement liés.

En G2, on observe une réduction globale de la pigmentation (FIGURE 24) et une tendance des ségrégations à s'uniformiser. En G3, certaines descendance sont fixées pour les marqueurs de pigmentation, d'autres présentent des ségrégations simples, mais on observe encore certaines ségrégations complexes (ANNEXE VI).

2. L'architecture paniculaire

2.1. les structures paniculaires observées en G1 et G2

2.1.1. diversité des architectures

On observe au cours des deux premières générations une grande diversité de types paniculaires. En moyenne, les hybrides ont des panicules plus courtes (LOPA) et surtout beaucoup moins ramifiées (RAP et RAS) que les variétés parentales (TABLEAU 22).

Par contre, en terme de rapport de ramifications secondaires sur ramifications primaires (DENS), les hybrides G1 apparaissent plus denses, tandis que les G2 ont des panicules plus compactes (COPA). En G2, on observe parfois chez les plantes aux panicules les plus ramifiées l'existence d'un troisième niveau de ramification; ce caractère, absent chez les variétés parentales est cependant parfois rencontré chez *O. sativa*.

	Pi (n=100)		G1 (n=620)					G2, SSD (n=620)				
	m	s	m	s	min	max	N	m	s	min	max	N
EXE	4,87	2,97	5,97	4,06	0	20,5	***	4,69	4,39	0	20,2	***
LOPA	27,4	2,47	27,05	4,01	13	38,7	NS	24,84	5	8,67	42,2	NS
RAP	13,1	2,11	10,76	2,37	5,3	18	***	11,9	3,46	3,3	26,7	***
RAS	33,3	8,76	28,83	9,88	2,67	70,3	NS	28,58	16,79	0	117,7	***
DENS	2,55	0,55	2,66	0,65	0,38	4,6	*	2,34	1,07	0	7,19	*
COPA	0,48	0,08	0,398	0,067	0,25	0,64	***	0,481	0,107	0,22	0,84	***

TABLEAU 22 : les caractères d'architecture paniculaire chez les parents Pi et en G1 et G2 moyennes (m), écart-types (s), extrêmes et tests d'ajustement à une loi Normale (N)

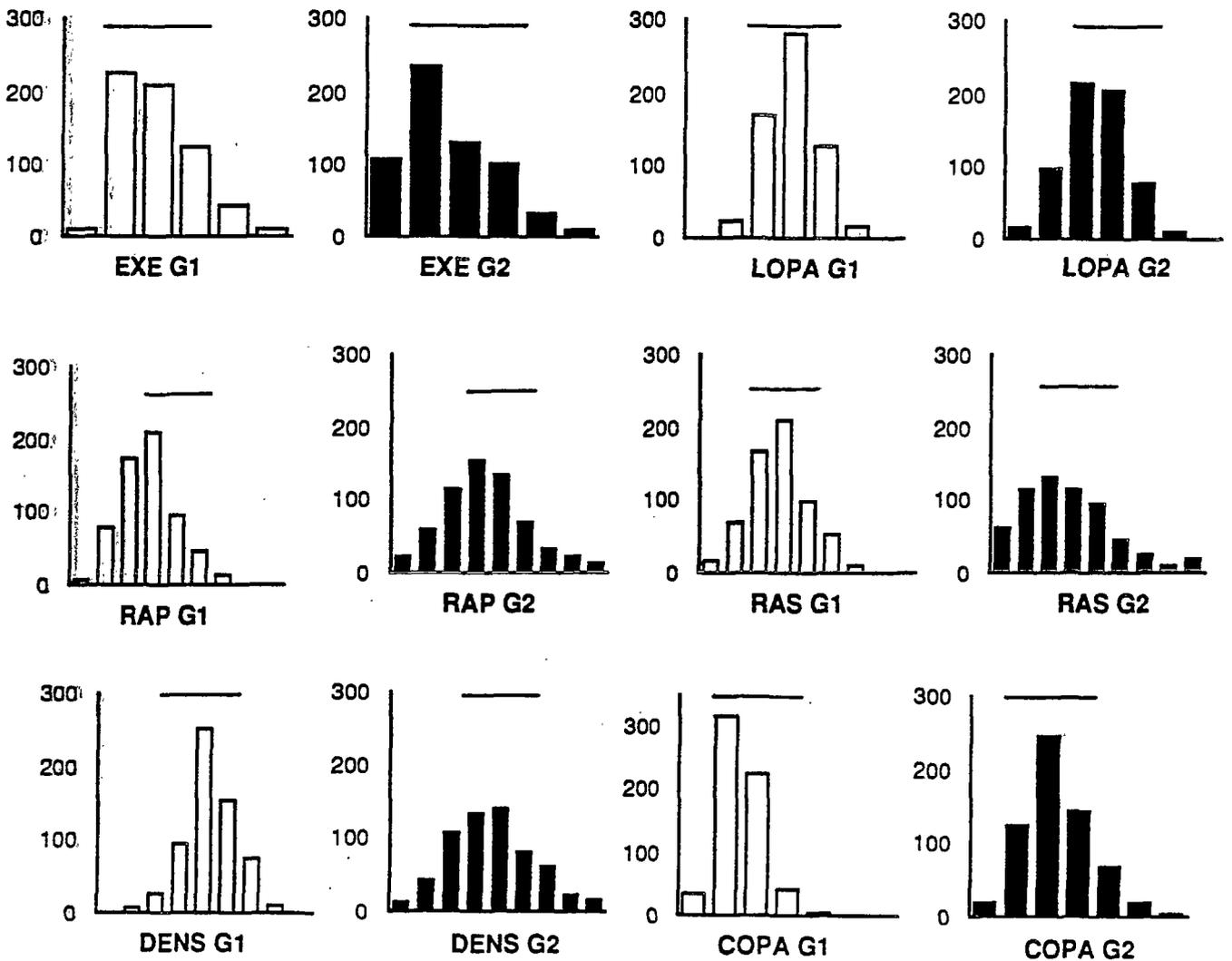


FIGURE 25 : distributions des caractères paniculaires en G1 et G2

après regroupement en 6 à 9 classes

la barre horizontale représente la diversité de variétés parentales

Les distributions globales s'ajustent rarement à une loi normale, mais on n'observe pas de bimodalité (FIGURE 25).

Tandis que chez les variétés parentales, le nombre de ramifications primaires est peu corrélé à la longueur des panicules ($r = 0,18$), chez les hybrides, les nombres de ramifications primaires et secondaires, plus liés l'un à l'autre, lui sont tous deux corrélés ($r = 0,65$ en G1 et $r = 0,63$ en G2). De même, la corrélation négative existant entre la densité et la compacité paniculaires chez les parents ($r = -0,37$) disparaît au niveau des hybrides G1 et apparaît très faible en G2 ($r = -0,15$) (ANNEXE V).

2.1.2. les anomalies paniculaires en G2

Diverses anomalies des structures florales sont apparues en G2; elles concernent une faible proportion de plantes (60 plantes sur 1880 observées) et sont de plusieurs types :

- glumes et glumelles également développées, de façon plus ou moins symétrique sur l'épillet (il semble y avoir une double enveloppe au grain);
- palea réduit à la taille des glumes;
- apparition d'une seconde fleur, réduite, à la base de l'épillet;
- intervalles entre les épillets si courts que plusieurs fleurs semblent emboîtées...

Ces anomalies résultent du fardeau génétique lié à *O. longistaminata*, leur apparition en G2 uniquement traduisant leur comportement récessif. Certaines de ces anomalies ont déjà été rencontrées chez *O. sativa* et correspondent à des mutations ponctuelles (JODON, 1957; CHANDRARATNA, 1964; TAKAHASHI, 1982).

2.2. évolution des caractéristiques sauvages

Outre le caractère égrenage qui concerne la presque totalité des hybrides G1 et G2 (seules 4 des 60 plantes les plus fertiles en G2 se sont révélées non égrenantes), d'autres caractéristiques de l'espèce sauvage sont rencontrées : ainsi les panicules demeurent dressées à maturité, et présentent fréquemment un port ouvert, contrairement aux variétés cultivées. Les descendances G3 permettent d'étudier l'évolution de ces caractères et d'en rechercher le déterminisme.

2.2.1. l'égrenage

On dispose donc, parmi les lignées G3, de 4 descendances de plantes G2 exceptionnellement non égrenantes : si on fixe un seuil à la note 1 (correspondant à moins de 25% de grains tombés après agitation des panicules), ces 4 descendances sont jugées non égrenantes. Les ségrégations observées sont récapitulées dans le TABLEAU 23 : on peut distinguer 3 groupes de comportement suivant la fréquence des descendants égrenants. Le type de ségrégation apparaît indépendant de la fertilité des lignées.

DESC	ségrégation		note moyenne	FAF (%)
	0 ou 1	2, 3 ou 4		
B	27	0	0,08	21
D	27	0	0,31	48
Q	27	0	0,03	32
R	27	0	0,11	36
E	26	1	0,12	18
J	26	1	0,12	16
A	25	2	0,33	20
I	22	5	0,71	33
S	22	5	0,52	33
O	21	6	0,66	35
K	20	7	0,66	32
M	20	7	0,73	43
P	16	11	0,95	53
T	14	13	1,25	24
F	13	14	1,64	70
G	12	15	1,78	18
N	12	15	1,47	19
L	11	16	1,35	9
H	9	18	1,93	48
C	7	20	1,75	50

descendances de plantes
non égrenantes

TABLEAU 23 : ségrégations des descendances G3 pour le caractère égrenage et liaison à la fertilité (FAF)

la classe 0 ou 1 correspond à moins de 25% de grains tombés après agitation des panicules

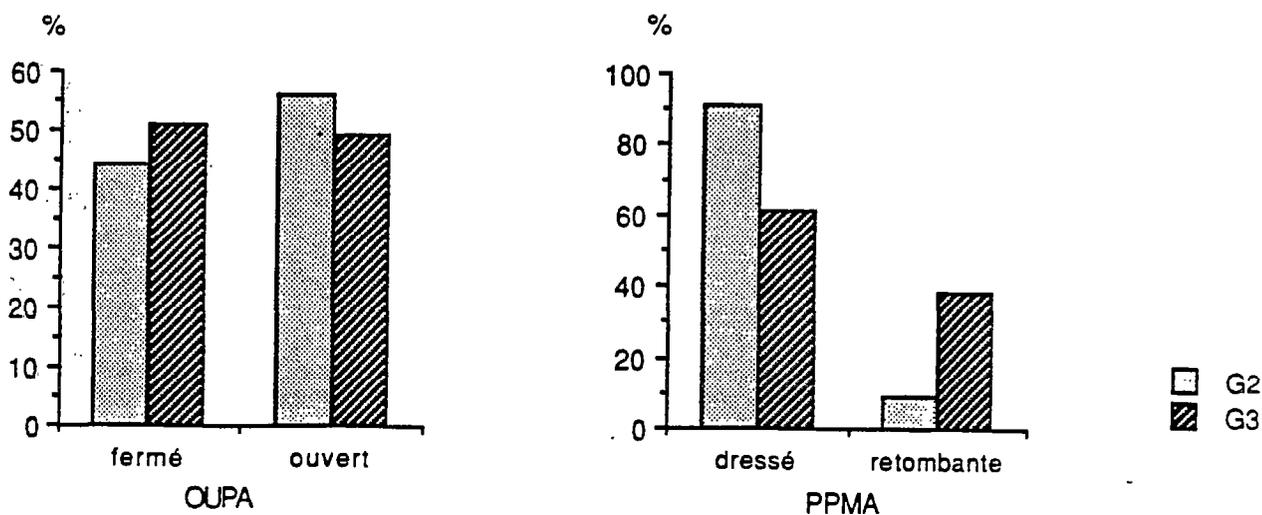
FAM	ARIS en G1			ARIS en G2			desc G3	ARIS en G3			parent G2
	0	1	2	0	1	2		0	1	2	
H4	0	26	74	13	27	60	G	100	-	-	0
H3	17	26	57	25	30	45	H I J K R	86	14	-	0
H6; H8	20	42	38	33	36	31	B M O P	20	80	-	1
HO; H9	27	28	45	34	29	37	D Q	59	32	9	1
H7; H5	34	46	20	40	32	28	F T	37	55	8	1
H1; H2	55	28	17	42	39	18	E L N	23	52	25	2
TOTAL	29	34	37	34	33	33	S	14	43	43	2
							A C	-	34	66	2

a: en G1 et G2

(seule la famille H4 est issue d'une variété aristée)

b: en G3

TABLEAU 24 : distributions des notes d'aristation à chaque génération (en %)



Chez *O. sativa*, ZEE *et al.* (1979) ont montré que l'égrenage dépend du nombre et de la taille des cellules parenchymateuses présentes dans la couche d'abscission du pédicelle, ainsi que du nombre de couches de cellules sclérenchymateuses bordant la couche d'abscission et les tissus vasculaires du pédicelle, ces caractères étant sous contrôle oligogénique (JIN et OMURA, 1982). CLEMENT et POISSON (1984b), par contre, ont étudié l'égrenage comme un caractère quantitatif: ils ont estimé une héritabilité relativement élevée pour ce caractère contrôlé par une accumulation de gènes dominants, avec une relation de dominance allant dans le sens d'un égrenage plus élevé. Dans notre cas, l'égrenage apparaît dominant en G1, mais les ségrégations observées en G3 suggèrent un déterminisme complexe.

2.2.2. l'aristation

La plante *Obake* utilisée comme parent femelle de la population G1 possède des arêtes caractéristiques d'*O. longistaminata*, beaucoup plus longues que celles observées chez les variétés cultivées aristées (cas de la variété parentale P4). Nous avons donc décomposé la note d'aristation suivant le type d'arêtes rencontré.

Environ les deux tiers des hybrides sont aristés, la moitié présentant de longues arêtes (TABLEAU 24a). Les ségrégations intrafamiliales apparaissent hétérogènes, traduisant soit l'existence d'interactions alléliques différentes suivant les familles, soit des effets sélectifs variables. Globalement, les fréquences évoluent peu de G1 en G2, mais on observe une tendance des ségrégations à s'homogénéiser.

Une seule des descendances G3 ne ségrège plus (TABLEAU 24b), mais 9 d'entre elles ne présentent plus d'arêtes de type sauvage. Les ségrégations observées apparaissent, comme pour les générations précédentes, complexes. Il semble cependant que le choix de plantes peu aristées permette d'éliminer plus rapidement ce caractère.

Chez *O. sativa*, l'aristation est gouvernée par trois gènes complémentaires dominants, auxquels viennent s'ajouter des gènes inhibiteurs (TAKAHASHI, 1982).

2.2.3. les autres caractéristiques sauvages

En ce qui concerne l'aspect des panicules, on observe toujours en G3 une grande diversité de types, mais les caractéristiques sauvages, panicules ouvertes et port dressé, concernent une proportion de plantes plus faible qu'en G2 (FIGURE 26). Les ségrégations observées pour ces deux caractères sont complexes et semblent faire intervenir un nombre de gènes variable (ANNEXE VII). L'expression de ces caractères dépend toutefois de la fertilité des plantes, les panicules les plus fertiles ayant tendance à retomber sous leur propre poids.

	PER1	PB23	PR23	SP4	PP24	HAUT	LOPA	DENS	COPA	EPI
EPI				0,20		-0,26		-0,25	-0,31	1,00
COPA	0,20			-0,57	0,35		-0,37	-0,37	1,00	
DENS						0,39	0,55	1,00		
LOPA		0,22				0,20	1,00			
HAUT	0,24	0,22				1,00				
PP24				-0,44	1,00					
SP4	-0,22	0,27	0,23	1,00						
PR23		0,27	1,00							
PB23		1,00								
PER1	1,00									

a : corrélations totales chez les témoins (n=100)

	PER1	PB23	PR23	SP4	PP24	HAUT	LOPA	DENS	COPA	EPI	FPOL	NGR
NGR										-0,20	0,31	1,00
FPOL											1,00	
EPI	-0,35		-0,32	0,18	-0,15		-0,22	-0,21	0,16	1,00		
COPA	-0,16		-0,16		0,17	0,27			1,00			
DENS						0,15	0,20	1,00				
LOPA	0,21		0,22	-0,22		0,41	1,00					
HAUT					0,15	1,00						
PP24				-0,17	1,00							
SP4		0,18	-0,15	1,00								
PR23	0,32	-0,30	1,00									
PB23		1,00										
PER1	1,00											

b : corrélations totales en G1 (n=380)

	PER1	PB23	PR23	SP4	PP24	HAUT	LOPA	DENS	COPA	EPI	FPOL	NGR
NGR				0,18						-0,25	0,29	1,00
FPOL											1,00	
EPI		-0,21						-0,33	0,26	1,00		
COPA		-0,15				0,17		-0,23	1,00			
DENS		0,22				0,18	0,30	1,00				
LOPA						0,55	1,00					
HAUT						1,00						
PP24					1,00							
SP4				1,00								
PR23		-0,27	1,00									
PB23		1,00										
PER1	1,00											

c : corrélations totales en G2 (n=280)

TABEAU 25 : matrices des corrélations totales chez les Pi, en G1 et G2
seules les corrélations différentes de 0 (au seuil de 5%) sont représentées

Le port prostré des talles, observé chez certains hybrides G1 ou G2, a été totalement éliminé en troisième génération. Les anomalies paniculaires ne concernent qu'une seule descendance G3, chez qui 10 plantes sur 60 présentent des fleurs surnuméraires à la base des épillets. La fertilité des plantes est indépendante de ce caractère, les fleurs extérieures pouvant développer un embryon.

Ces différents caractères, liés au type sauvage d'*O. longistaminata*, n'ont pas été éliminés à la suite d'une seule autofécondation, mais cet essai a permis de montrer qu'aucun n'était rédhibitoire.

3. Approche synthétique

3.1. évolution des corrélations au cours des générations

La prise en compte simultanée des caractères de fertilité, de floraison, de développement végétatif et d'architecture paniculaire permet d'obtenir une image globale de la diversité.

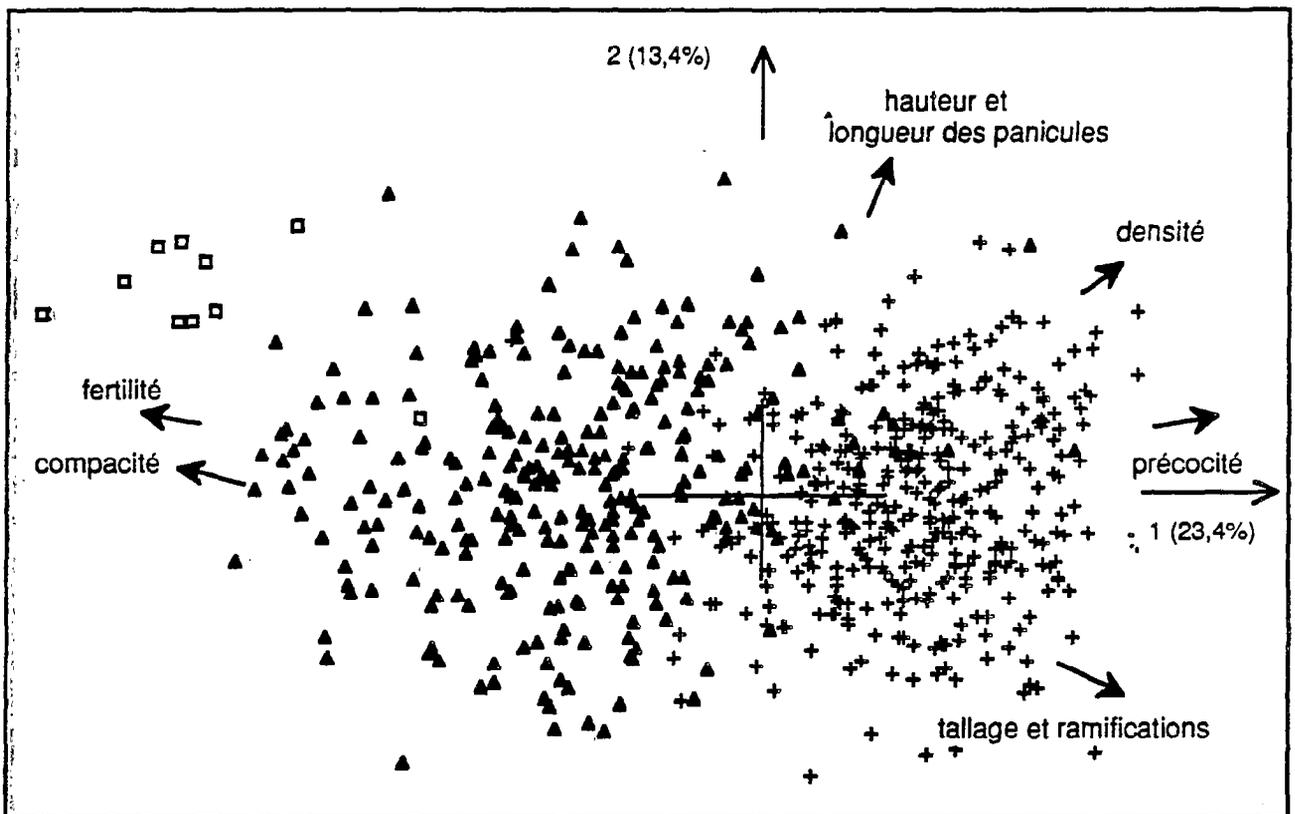
Chez les hybrides, le niveau de ramification des panicules dépend essentiellement de la vigueur globale de la plante. Les nombres de ramifications primaires (RAP), secondaires (RAS), la hauteur (HAUT) et la longueur des panicules (LOPA) et du drapeau (LOFP) constituent un groupe de variables fortement corrélées entre elles (ANNEXE V).

Compte tenu des groupes de corrélations, nous n'avons conservé que les variables les plus faiblement corrélés :

- la longueur, la densité et la compacité des panicules (LOPA, DENS et COPA);
- la pérennité du premier noeud (PER1), les notes moyennes de ramification (PB23) et de pérennité des deuxièmes et troisièmes noeuds (PR23) ;
- la production de panicules en quatre semaines (SP4) et la proportion de panicules produite pendant les deux premières semaines (PP24) ;
- la hauteur (HAUT) et la date d'épiaison (EPI);
- la fertilité en graines (NGR) et pollinique (FPOL).

Le TABLEAU 25 présente l'évolution des corrélations totales entre ces caractères au cours des générations G1 et G2. On observe en G1 pour certains couples de caractères la rupture de corrélations existant chez les parents (notamment pour COPA-SP4, HAUT-EPI et DENS-COPA), ou leur inversion (COPA-EPI, COPA-PER1, PR23-SP4 et PB23-PR23), tandis que de nouvelles associations apparaissent (PER1-LOPA; LOPA-SP4; COPA-HAUT).

Certaines corrélations ne sont annulées qu'en G2 (EPI-SP4, SP4-PP24, COPA-PP24). Les seules corrélations conservées au cours des générations concernent la relation attendue FPOL-NGR et les couples LOPA-DENS, DENS-EPI, HAUT-DENS et HAUT-LOPA.



**FIGURE 27 : plan (1,2) d'une A.C.P. réalisée sur 280 hybrides G2 et 380 G1
projection des variétés parentales en individus supplémentaires**

- Pi
- + G1
- ▲ G2

L'évolution des corrélations au cours des générations traduit donc une modification des associations de caractères rencontrées chez les variétés parentales. On peut rechercher l'origine de cette évolution au niveau de recombinaisons entre les génomes confrontés, ou au niveau de différences morphogénétiques induites par l'hybridation interspécifique.

3.2. retour vers un phénotype cultivé en G2

Une Analyse en Composantes Principales (A.C.P.) est réalisée à partir des variables précédentes, portant sur 380 hybrides G1 et 280 G2. Les variétés parentales sont projetées en individus supplémentaires. Les quatre premiers axes représentent 58% de l'inertie totale.

Le premier axe, défini dans ses valeurs négatives par la fertilité, la longueur du cycle et la compacité paniculaire, dans ses valeurs positives par l'état de ramification au bouturage et le tallage, permet de distinguer les générations et met en évidence la position intermédiaire de la G2 entre la G1 et les variétés parentales, même si ces dernières n'interviennent pas activement dans l'analyse (FIGURE 27). Globalement, cet axe correspond à l'opposition entre les types sauvages et plus cultivés. Les axes suivants ne discriminent plus les deux générations : le deuxième axe est lié à la vigueur des plantes (HAUT et LOPA), tandis que le troisième est principalement défini par la pérennité.

La variabilité interne à chaque génération s'organise de façon équivalente sur ces axes; on observe cependant un accroissement de la diversité en G2.

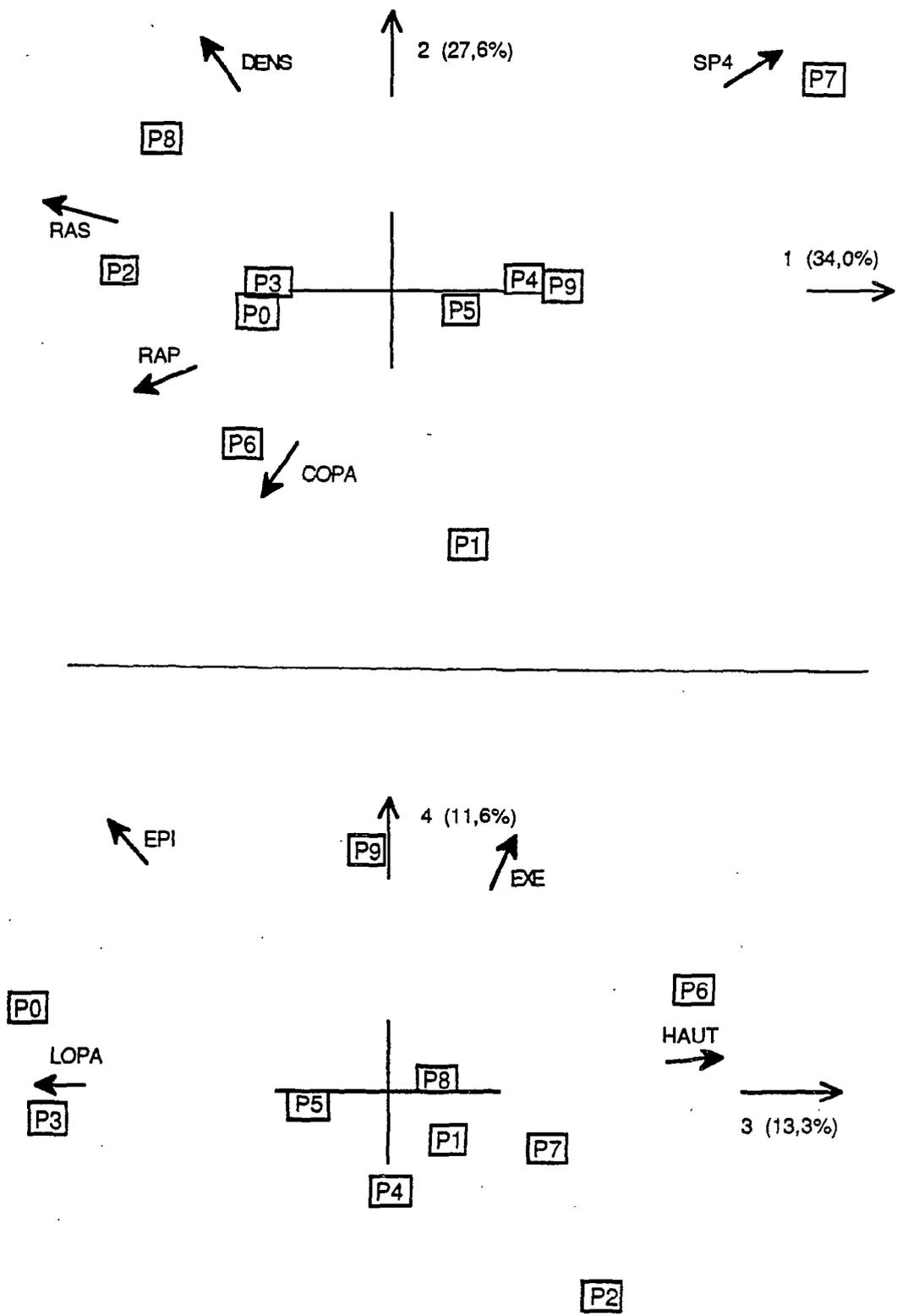


FIGURE 28 : projection des points moyens des 10 variétés parentales sur les plans (1,2) et (3,4) de l'A.C.P. réalisée sur 10 x 10 individus

B - Organisation de la diversité : évolution des structures familiales

1. Diversité des géniteurs

1.1. les variétés cultivées

Les variétés d'*O. sativa* utilisées comme géniteurs mâles de la G1 varient non seulement au niveau de leur structure enzymatique, mais aussi pour de nombreux caractères morphologiques.

Les différences, mises en évidence par des tests de comparaison de moyenne, se retrouvent dans l'analyse multivariée : la FIGURE 28 représente la projection des 10 variétés sur les quatre premiers axes d'une A.C.P. réalisée sur les principaux caractères morphologiques. On distingue différents regroupements des variétés sur ces axes :

- P2 et P8 aux panicules denses, s'opposent à P1 (petites panicules, avec beaucoup de ramifications primaires);
- P2 se distingue des autres variétés par son cycle très court, au contraire de P0, P9 et P7, variétés tardives.
- P4, P5 et P9 avec peu de ramifications s'opposent sur le premier axe au groupe constitué de P6, P3 et P0.
- P7, par son tallage exceptionnel et sa structure paniculaire également originale, occupe une place particulière : ses panicules très peu ramifiées sont lâches et conservent à maturité un port dressé.

1.2. plasticité de la plante *Obake*

Simultanément à l'essai G1, la plante *Obake* UL16.6 a été décrite à partir de souches obtenues par multiplication végétative et cultivées en conditions aquatiques. Dans ces conditions, les plantes sont très vigoureuses, possèdent des panicules très longues, avec beaucoup de ramifications secondaires.

Au cours de l'essai G2, des boutures d'UL16.6 ont été réparties dans les parcelles. Il s'est avéré qu'en conditions pluviales (identiques aux conditions de culture des hybrides), le développement des boutures était extrêmement ralenti, les plantes n'émettant que tardivement de petites panicules, très peu ramifiées.

Du fait de cette différence de comportement suivant les conditions de culture, nous ne chercherons pas à comparer les hybrides à leur parent femelle.

		CMR (Vw)	CMF	Vb	Vt	t
EXE	Pi	6,3	35,09	2,879	9,18	0,314
	G1	14,71	140,04	2,021	16,73	0,121
	G2	18,77	53,46	0,560	19,33	0,029
LOPA	Pi	2,55	42,6	4,005	6,56	0,611
	G1	13,84	173,96	2,583	16,42	0,157
	G2	23,87	104,59	1,302	25,17	0,052
RAP	Pi	0,981	39,54	3,856	4,84	0,797
	G1	4,62	74,59	1,129	5,75	0,196
	G2	11,92	19,11	0,116	12,04	0,010
RAS	Pi	34,35	508,83	47,448	81,80	0,580
	G1	88,96	697,92	9,822	98,78	0,099
	G2	276,53	684,55	6,581	283,11	0,023
DENS	Pi	0,139	2	0,186	0,33	0,572
	G1	0,41	1,29	0,014	0,42	0,033
	G2	1,12	2,71	0,026	1,15	0,022
COPA	Pi	0,00157	0,0654	0,0064	0,008	0,803
	G1	0,0039	0,0467	0,0007	0,005	0,150
	G2	0,01129	0,0243	0,0002	0,011	0,018
HAUT	Pi	50,86	306,36	25,550	76,41	0,334
	G1	161,29	1213,66	16,974	178,26	0,095
	G2	254,39	391,96	2,219	256,61	0,009
EPI	Pi	13,06	430,11	41,705	54,77	0,762
	G1	58,13	1399,39	21,633	79,76	0,271
	G2	179,88	942,91	12,307	192,19	0,064
SP4	Pi	97,66	5069,13	497,147	594,81	0,836
	G1	318,02	3090,15	44,712	362,73	0,123
	G2	223,36	869,17	10,416	233,78	0,045

TABLEAU 26 : décomposition de la variance à chaque génération

$$Vb = (CMF - CMR) / k \quad (k=10 \text{ pour Pi, } k=62 \text{ pour G1 et G2})$$

$$Vt = Vb + Vw$$

$$t = Vb / Vt$$

2. Organisation de la variabilité à chaque génération

Les caractéristiques de chaque famille aux deux premières générations pour les principaux caractères analysés, ainsi que les résultats de l'analyse de variance sur le facteur famille et la comparaison aux valeurs des variétés parentales sont présentés en ANNEXE VIII.

2.1. diversité intra et interfamille

Nous avons vu précédemment l'importante diversité générée en G1 et G2. Nous nous sommes intéressés à l'évolution de la structuration en famille de cette diversité. Pour cela, la variance est décomposée à chaque génération en ses deux composantes intra et inter-famille (TABLEAU 26).

A chaque génération, l'homogénéité des variances est rejetée pour les variables SP4 et RAS . Pour la première, on observe une relation linéaire entre moyenne et variance ($r = 0,73$ chez les parents, 0,88 en G1 et 0,96 en G2). Une transformation racine carrée permet de stabiliser les variances en G1 et G2, mais ne modifie pas les résultats des comparaisons de moyennes familiales. On présentera donc les résultats de la variable non transformée. Pour le nombre de ramifications secondaires, moyennes et variances ne sont pas liés, l'analyse est donc poursuivie sans transformation.

Seule la variable SP4 voit sa variance totale diminuer en G2, du fait de la diminution des moyennes et de la liaison précédemment citée. Pour tous les autres caractères, la variance totale augmente en G2, mais la proportion de variance inter-famille (estimée par le coefficient de corrélation intraclasse t) est considérablement réduite.

L'accroissement de la variance intra-famille en G1 résulte de la ségrégation gamétique d'UL16.6 et traduit son niveau élevé d'hétérozygotie. Au niveau de la production gamétique en G1, les recombinaisons s'effectuent entre les gènes "*japonica*" transmis par le parent cultivé et les gènes "*indica*" ou *O. longistaminata* issus du parent *Obake*. Le taux élevé d'allofécondation et le brassage entre les familles interviennent également à ce niveau pour réduire la part de variance inter-famille en G2.

2.2. représentation comparée de la diversité intrafamiliale

La FIGURE 29 schématise le premier plan de l'A.C.P. réalisée à partir des hybrides G2 de la famille 8 pour les principaux caractères morphologiques étudiés. La projection, en individus supplémentaires, des hybrides G1 et des parents sur ce plan illustre les rapports de variance intra-famille présentés précédemment.

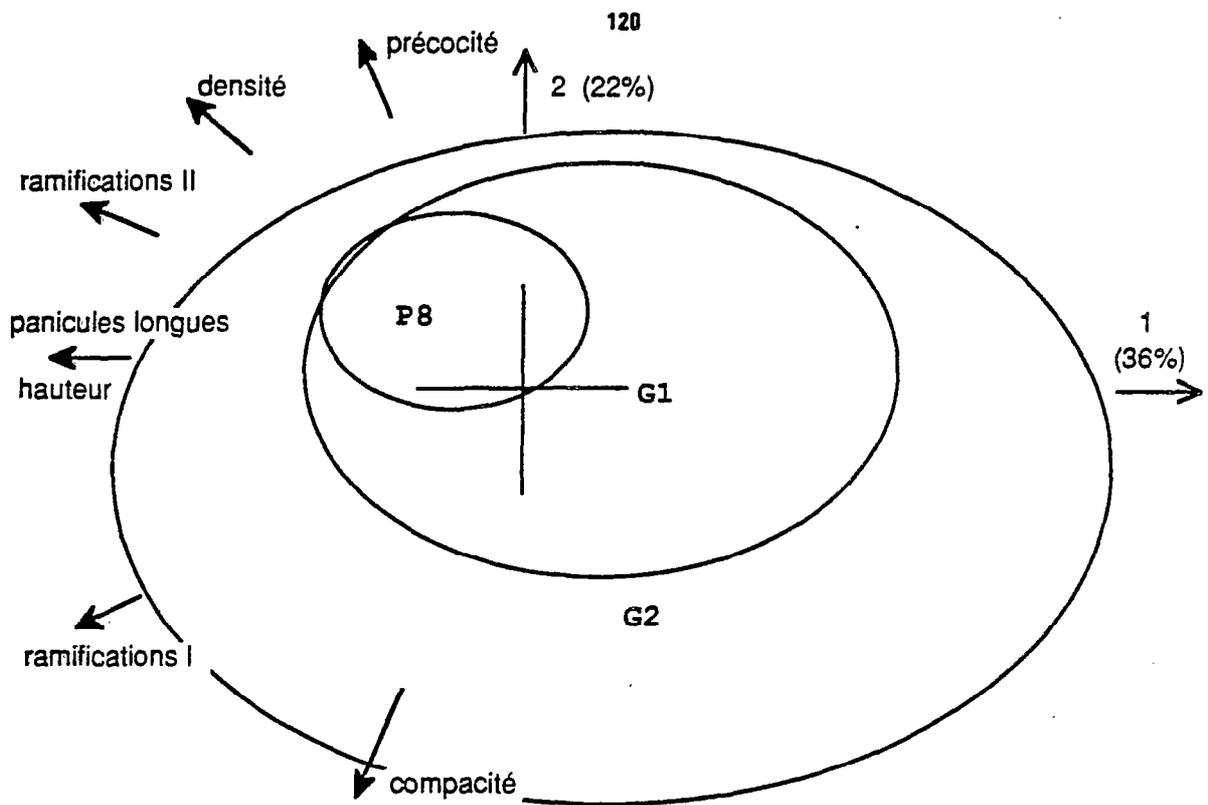


FIGURE 29 : A.C.P. réalisée sur 62 hybrides G2 appartenant à la famille 8

projection sur le plan (1,2) des nuages de dispersion
du parent P8 et de ses descendants G1 et G2

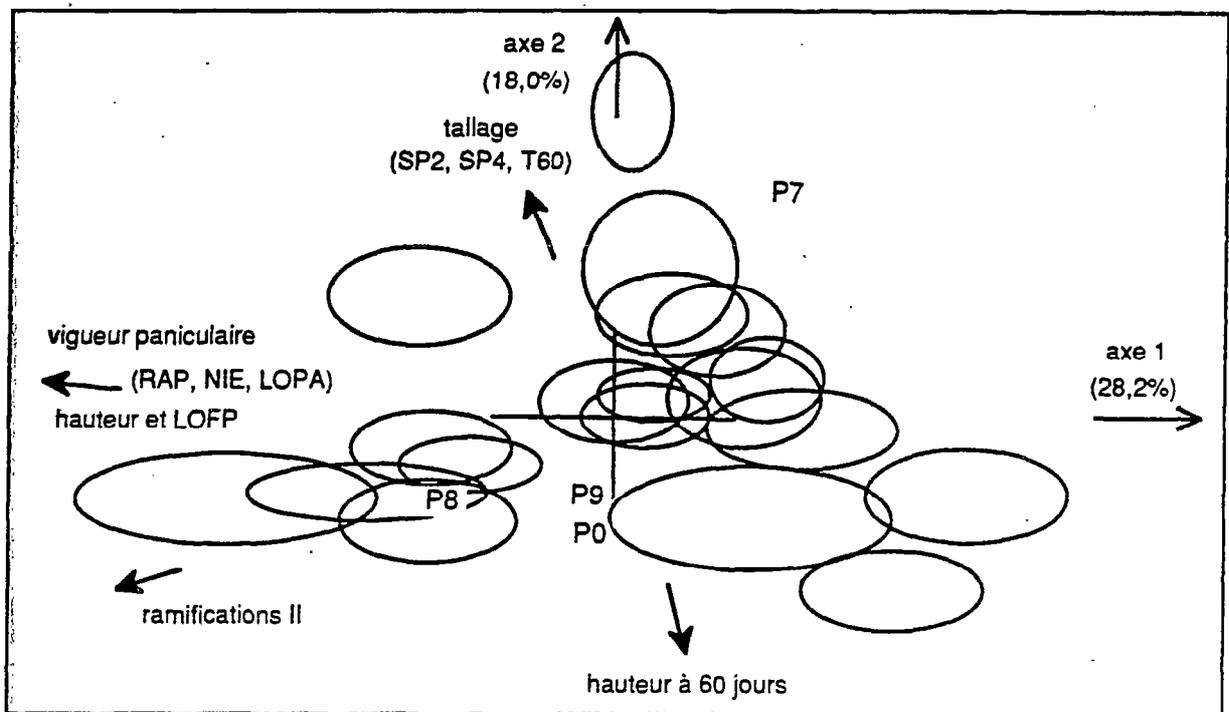


FIGURE 30 : plan (1,2) d'une A.C.P. réalisée sur les descendance G3:

projection des ellipses centrées sur les points moyens de chaque lignée G3
dont les rayons correspondent à la moitié de l'écart-type sur chaque axe;
les témoins de l'essai sont projetés en points supplémentaires

Une image comparable est obtenue pour chaque famille, la diversité s'organisant globalement de manière équivalente : un premier axe de vigueur, défini par les variables paniculaires brutes et la hauteur (ainsi que la longueur des feuilles paniculaires lorsqu'elle est introduite dans l'analyse) sur lequel s'étire le nuage des points, et un second axe correspondant à la longueur du cycle et la compacité paniculaire, tandis que le tallage n'apparaît qu'au niveau du troisième ou quatrième axe.

2.3. comparaison des moyennes familiales à chaque génération

Le test de comparaison multiple des moyennes de Newmann et Keuls permet de distinguer un certain nombre de groupes de familles aux moyennes équivalentes. Les résultats de ces tests pour les caractères paniculaires, la hauteur, le tallage et la précocité en G1 et G2 sont présentés en ANNEXE VIII. Les comparaisons des moyennes familiales en G2 restent significatives pour les principaux caractères morphologiques (sauf pour RAP et HAUT), mais le nombre de groupes mis en évidence par ce test est réduit et résulte généralement des valeurs extrêmes dues à la famille 7 (cas des variables RAS, DENS, COPA, SP4) ou à la famille 2 pour la précocité. En ce qui concerne les notes de pérennité, seules les variables PB1, PL1, PER1, PER3 et PR23 présentent des différences significatives en G1, et en G2 tous les tests sont non significatifs.

3. Diversité des descendance G3

Les principales caractéristiques de chaque descendance en G3 sont décrites en ANNEXE IX. L'origine génétique des lignées G3 varie suivant le nombre d'autofécondation dont elles sont issues: si elles proviennent de deux autofécondations successives, elles correspondent à des "F3" et ne possèdent qu'un géniteur *japonica*, mais elles peuvent également provenir d'un intercroisement en G1, impliquant deux géniteurs. Cette différence d'origine se retrouve au niveau de la structure de leur diversité : le test de Hartley rejette l'hypothèse d'homogénéité des variances intra-lignée pour de nombreuses variables (ANNEXE IX).

La FIGURE 30 montre le premier plan d'une A.C.P. portant sur la totalité des variables morphologiques étudiées au cours de cet essai. Ce plan représente 46% de l'inertie totale. L'axe 1 est caractérisé par les variables paniculaires brutes, associées à la hauteur à maturité et à la longueur des feuilles paniculaires : il correspond à un axe de vigueur au stade adulte. L'axe 2 oppose la hauteur à 60 jours au tallage (précoce et à maturité). La projection des ellipses de confiance de chaque lignée sur ce plan révèle l'hétérogénéité des variances intra-lignée sur les 2 axes. Les variétés témoins, étudiées en individus supplémentaires, ont une position intermédiaire sur l'axe 1; la position des trois variétés P0, P9 et P8 sur l'axe 2 provient de leur faible tallage, et on peut remarquer une amélioration de ce caractère chez certaines lignées G3. Il apparaît cependant que les valeurs extrêmes de l'axe 1 sont caractérisées par de faibles valeurs de tallage, contrairement aux lignées intermédiaires sur l'axe 1 qui ont des comportements plus variables.

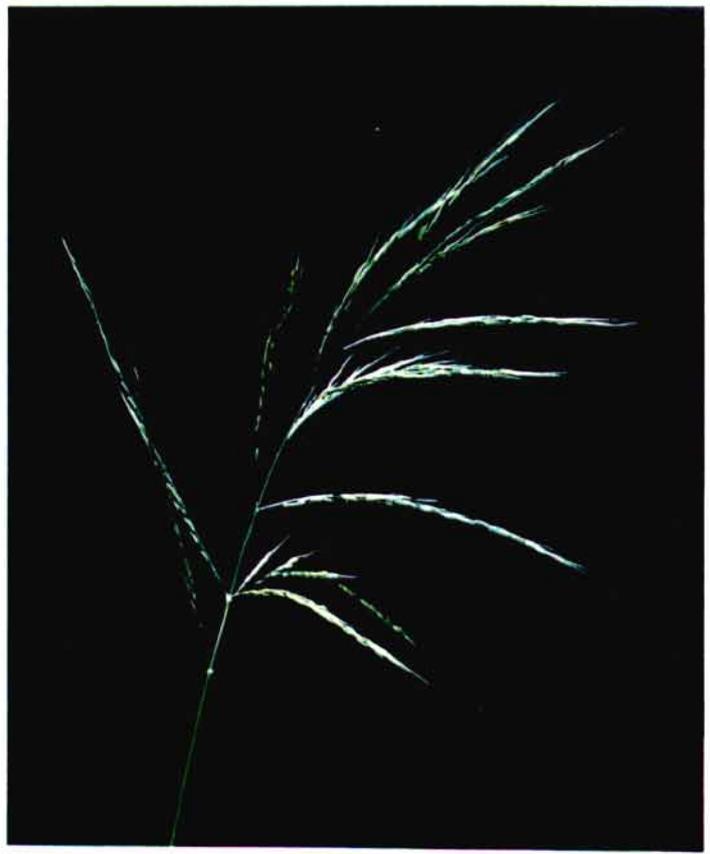
comparaison		b	(s)	R2	F
LOPA	P/G1	0,732	(0,123)	0,816	35,47 **
	P/G2	0,533	(0,118)	0,719	20,47 **
	G1/G2	0,628	(0,161)	0,655	15,20 **
	G2/G3	0,674	(0,109)	0,679	38,12 ***
RAP	P/G1	0,378	(0,142)	0,471	7,1 *
	P/G2	0,220	(0,061)	0,62	13,08 **
	G1/G2	0,337	(0,133)	0,441	6,39 *
	G2/G3	0,765	(0,127)	0,668	36,29 ***
RAS	P/G1	0,301	(0,128)	0,408	5,52 *
	P/G2	0,344	(0,111)	0,545	9,59 *
	G1/G2	0,841	(0,185)	0,72	20,60 **
	G2/G3	0,462	(0,111)	0,491	17,36 ***
DENS	P/G1	0,266	(0,067)	0,666	15,96 **
	P/G2	0,260	(0,137)	0,312	3,63 NS
	G1/G2	1,056	(0,341)	0,545	9,57 *
	G2/G3	0,545	(0,137)	0,469	15,92 ***
COPA	P/G1	0,259	(0,086)	0,532	9,09 *
	P/G2	0,212	(0,042)	0,735	26,02 ***
	G1/G2	0,499	(0,164)	0,537	9,27 *
	G2/G3	0,623	(0,146)	0,501	18,11 ***
HAUT	P/G1	0,018	(0,284)	0,001	0 NS
	P/G2	-0,03	(0,161)	0,005	0 NS
	G1/G2	0,236	(0,183)	0,172	1,66 NS
	G2/G3	0,330	(0,221)	0,11	2,22 NS
EPI	P/G1	0,337	(0,227)	0,215	2,19 NS
	P/G2	0,502	(0,112)	0,714	19,98 **
	G1/G2	0,532	(0,220)	0,422	5,83 *
	G2/G3	0,679	(0,129)	0,608	27,87 ***
SP4	P/G1	0,262	(0,061)	0,697	18,41 **
	P/G2	0,129	(0,037)	0,598	11,92 **
	G1/G2	0,399	(0,123)	0,566	10,45 **
	G2/G3	0,117	(0,047)	0,261	6,34 *

TABLEAU 27 : régressions parents-descendants

b (s): pente (écart-type)

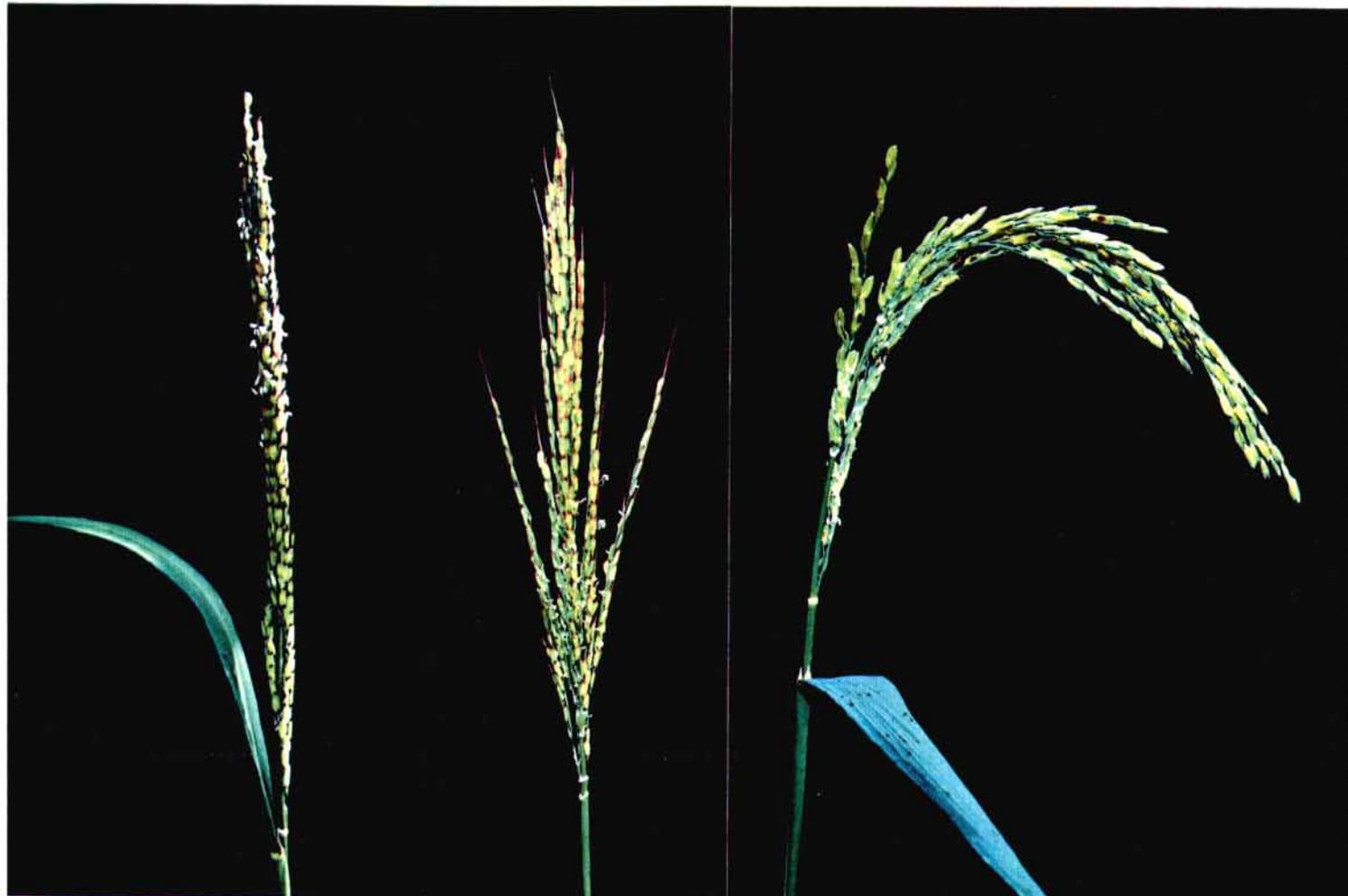
R2 : coefficient de détermination

F: test de la régression (pour P/G1, P/G2 et G1/G2, F à 1 et 8 ddl)
(pour G2/G3, F à 1 et 18 ddl)



2 panicules typiques de l'essai G1

EVOLUTION DE L'ARCHITECTURE PANICULAIRE



3 panicules de l'essai G3

C - Transmission des caractères et efficacité de la sélection

1. Importance du choix des géniteurs cultivés

L'influence de l'hybridation interspécifique sur le mode de transmission des caractères est jugée par l'étude des régressions linéaires entre la valeur des parents *O. sativa* et celle de la moyenne de leurs descendants.

Ces régressions sont représentées en ANNEXES X et XI.

1.1. relation entre les valeurs des parents et des descendants G1

La population d'hybrides G1 est structurée en familles de demi frères; les coefficients de régression correspondent, au facteur 1/2 près, à des héritabilités au sens large.

Le TABLEAU 27 montre que ce coefficient est significatif et relativement élevé pour tous les caractères de structure paniculaire. Il reste significatif pour la production mensuelle de panicules, mais ne diffère pas de zéro pour la hauteur et la précocité. Notons ici que les résultats concernant la précocité sont biaisés en G1, du fait de l'étalement des repiquages qui ne concerne pas équitablement toutes les familles.

On peut en déduire :

- 1 : du point de vue de l'hérédité quantitative, l'hybridation interspécifique n'introduit pas de distorsions particulières;
- 2 : Les caractères de structure paniculaire et la production mensuelle de panicules, à déterminisme principalement additif (SHRIVASTAVA et SESHU, 1983; LIN et CHANG, 1981), se transmettent bien du parent cultivé à l'hybride;
- 3 : En ce qui concerne la hauteur, l'additivité n'est pas généralement le phénomène génétique majeur (CHATEL et DECHANET, 1980), mais elle est tout de même relativement importante. Il semble que l'hybridation menée dans cette expérience introduise des distorsions, d'intensité variable suivant les familles, se traduisant par l'absence de relation entre la hauteur des parents et celle des hybrides.

	LOPA		RAP		RAS		DENS		COPA		NIE		EPI (prec)	
	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%
P0	1	1	1	1	3	3	3	3	5	5	3	2	2	2
P7	4	3	16	13	10	7	5	5	16	13	8	6	5	4
P8	1	1	1	-	1	1	2	2	1	1	1	1	1	-
P9	1	1	1	1	3	3	5	4	4	1	3	3	3	3

extr. Pi	27,2	11,6	37,8	3,17	0,45	190	84,2
extr. lignées	34,4	14,3	65,2	5,45	0,584	324	70,6

	EPI (tard)		H60		HAUT		LOFP		LAFP		T60		SP4	
	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%	5%	1%
P0	5	4	3	2	6	4	6	4	-	-	11	8	5	5
P7	1	-	13	13	2	1	5	3	9	5	-	-	-	-
P8	13	12	2	2	1	1	2	1	-	-	2	1	3	3
P9	2	2	2	2	1	1	7	6	-	-	7	4	5	4

extr. Pi	109,5	30,1	91,3	45,2	2,28	9,55	17,4
extr. lignées	124,7	41,7	116,5	56,9	2,47	9,05	17,4

TABLEAU 28 : nombre de lignées G3 supérieures à chacun des témoins
(test de DUNETT, seuils 5% et 1%)
valeurs moyennes extrêmes observées chez les témoins et les descendance;
pour la date d'épiaison, les deux comportements (précoce et tardif) sont testés

1.2. relation entre les valeurs des parents et des descendants G2

Les coefficients de régression (b) entre les valeurs parentales et celles des hybrides G2 sont généralement inférieurs à celles observées en G1, sauf en ce qui concerne la précocité (TABLEAU 27 et ANNEXE XI). La forte valeur de b pour cette variable confirme le biais lié à l'étalement des repiquages en G1 et indique l'importance de l'héritabilité de ce caractère.

Si en G1, la structure familiale correspond à des familles de demi frères, la structure en G2, du fait de l'importance des intercroisements en G1, est plus floue : suivant le pollinisateur, 2 plantes appartenant à des familles différentes auront des liens de parenté variables, de demi frères s'ils ont été pollinisés par la même plante à simple cousin s'ils sont issus d'autofécondation. Pour cette raison, on ne cherchera pas à interpréter les coefficients de régression en terme d'héritabilité.

1.3. relation entre les valeurs moyennes en G1 et G2

Les coefficients de régression entre les valeurs familiales moyennes en G1 et celles en G2 sont généralement élevés. La comparaison des coefficients de détermination (R^2) montre que les phénomènes sélectifs observés en G1 (pertes précoces dans les familles H1 et H2 notamment) ne se sont pas répétés en G2; à cette génération, les pertes sont donc plus indépendantes des génotypes parentaux.

2. Performances des descendance G3

Le choix des plantes dont les descendance ont été étudiées au cours de l'essai G3 est basé uniquement sur leur fertilité.

A ce niveau, les coefficients de régression (TABLEAU 27 et ANNEXE XII), élevés pour les caractères paniculaires et la précocité concordent avec les résultats précédents et traduisent l'importance du choix des plantes pour ces caractères si l'on envisage une sélection de type généalogique à partir de la G2.

La comparaison des moyennes des descendance aux valeurs des témoins montre, pour la plupart des caractères, l'existence de lignées supérieures aux témoins (TABLEAU 28). La confrontation des différents génomes entreprise dans cette expérience permet donc d'obtenir des transgressions intéressantes en sélection.

	LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA	HAUT	EPI	SP4
CM fam:	119,7 ***	29,2 **	448 *	2,77 **	0,095 ***	144 NS	1505 ***	1027 ***
CM meth:	341 ***	174 ***	4409 ***	7,21 ***	0,031 **	12487 ***	8145 ***	13444 ***
CM inter:	46 *	19,4 NS	376 NS	1,39 NS	0,017 NS	584 **	230 NS	337 *
CM rés.:	21,4	10,7	229	1,01	0,011	227	167	174

a : analyse de variance à 2 facteurs: famille et méthodes
famille : 9 ddl ; méthode : 1 ddl ; résiduelle 1220 ddl

LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA	HAUT	EPI	SP4
m s	m s	m s	m s	m s	m s	m s	m s

SSD:	24,84 4,99	11,9 3,46	28,6 16,8	2,34 1,07	0,48 0,107	77,9 16	113 13,8	23,6 15,2
BULK	23,78 4,43	11,16 3,12	24,81 13,4	2,18 0,95	0,47 0,109	71,58 14,17	118 12,7	16,97 11,36
F°	1,269 **	1,23 **	1,572 ***	1,27 **	0,96 NS	1,275 **	1,17 *	1,79 ***

b : comparaison des variances des échantillons totaux

TABLEAU 29 : comparaison de la diversité morphologique en Bulk et SSD

3. Comparaison de la diversité des plantes issues de BULK et de SSD

La différence entre les deux méthodes réside dans le choix des plantes G1. Nous avons vu que ce choix était inefficace pour améliorer le niveau de fertilité des hybrides (chapitre I).

Au niveau morphologique, on observe en moyenne des valeurs légèrement inférieures en Bulk (ANNEXE XIII); l'analyse de variance révèle également une interaction entre famille et méthode (TABLEAU 29) pour les variables LOPA, HAUT, et SP4, et traduit l'influence des parents les plus représentés dans la descendance du Bulk, la fertilité des plantes étant indépendante de leur valeur phénotypique.

Le taux d'autofécondation estimé en G1 est supérieur en Bulk (chapitre I), et se traduira par une structure familiale plus conservée, du fait d'un plus fort apparentement entre les plantes G2. La comparaison des variances des échantillons issus de chaque méthode montre une réduction de la variance globale en Bulk pour tous les caractères sauf pour la compacité paniculaire (TABLEAU 29). L'homogénéité des variances familiales est rejetée pour les variables COPA, SP4 et EPI (en SSD, ce rejet ne concernait que SP4).

CONCLUSION

L'introgession d'*O. sativa* par *O. longistaminata* génère une importante diversité morphologique. Cette diversité s'exprime autant au niveau du développement végétatif (pour les caractéristiques de croissance et de tallage) qu'au niveau de l'architecture paniculaire. Les hybrides, en G1 et G2, sont fortement marqués par certains caractères spécifiques de l'espèce sauvage. L'exploitation de la diversité, en vue d'une utilisation agronomique, impose l'élimination de ces caractéristiques.

Le fardeau génétique d'*O. longistaminata*, observé également par GHESQUIERE (1988) apparaît important : on observe une certaine proportion de plantes faibles, ainsi que des anomalies dans le développement des épillets. Ces caractères, tout comme les défauts de germination, peuvent provenir de l'expression de gènes récessifs létaux ou défavorables. Le taux important de plantes au port prostré, ainsi que la faiblesse observée en G1 provient plutôt de disfonctionnements génétiques, la confrontation des génomes d'une espèce annuelle et d'une espèce pérenne pouvant rompre l'harmonie nécessaire au niveau des interactions alléliques.

Toutefois, les hybrides qui ne sont pas marqués par des phénomènes précoces de faiblesse présentent un tallage particulièrement vigoureux, notamment en G1, associé à une aptitude à émettre de nouvelles panicules de façon continue. Le caractère rhizome a totalement été éliminé dès la G1.

L'étude de descendance en autofécondation de quelques plantes G2 montre que les caractères liés à la domestication (caducité des grains, aristation, pigmentation) présentent des ségrégations complexes mais ne sont pas rédhibitoires. Ce résultat confirme celui de MORISHIMA (1985) qui a conclu, à partir de l'étude d'hybrides entre *O. perennis* et *O. sativa*, que les caractères de domestication ont été acquis chez le riz par accumulation graduelle de gènes, répartis dans tout le génome.

L'étude des régressions entre les valeurs des variétés parentales et celles de leur descendants montre par ailleurs que l'hybridation interspécifique n'introduit pas de biais important dans le mode de transmission des caractères.

La comparaison morphologique des hybrides G1 et G2 révèle une fréquence plus faible des caractéristiques sauvages en G2, une réduction de la pérennité, et une modification des structures paniculaires. Les corrélations observées entre caractères en G2 ont des valeurs fréquemment intermédiaires entre celles observées chez les variétés parentales et celles mesurées en G1. Cette évolution spontanée vers un phénotype plus cultivé en G2, accompagnée d'une amélioration de la

fertilité, concorde avec les études menées par OKA et CHANG (1959) et OKA et MORISHIMA (1971) sur des hybrides entre *O. perennis* et *O. sativa* : ces auteurs observant le même type d'évolution, parallèlement à l'augmentation de l'autofertilité ont considéré que le fait de cultiver une espèce spontanée est un agent sélectif en soi. Ce phénomène sera envisagé plus précisément dans la discussion.

L'organisation de la variabilité révèle une structuration nette en G1, des différences de moyennes suivant la variété parentale étant mises en évidence pour tous les caractères. En G2, à la suite du brassage entre les familles et des recombinaisons intergénomiques, la décomposition de la variance montre un accroissement de la variance totale et une réduction de la variance inter-famille.

La comparaison des méthodes de reconduction des générations (Bulk et SSD) nécessite plusieurs générations d'observations et concerne généralement des espèces cultivées (CAUSSE, 1985). Toutefois, l'observation d'une réduction de la variabilité en Bulk concorde avec les observations de nombreux auteurs (GRIGNAC *et al.*, 1978; EMPIG et FEHR, 1971) et avec les simulations de MUEHLBAUER *et al.* (1981).

Les régressions observées entre la valeur des plantes G2 et celle des lignées G3 correspondantes justifient, dans une optique de sélection de type généalogique, de porter une attention particulière au choix des plantes, notamment pour les caractéristiques paniculaires. Les lignées G3, en raison de différence de structures génétiques (F3 avec une seule variété parentale, ou descendants d'un hybride entre deux plantes G1 de familles différentes) présentent des degrés d'homogénéité variables. La comparaison de ces descendances à quatre variétés témoins révèle l'existence de lignées en moyenne supérieures aux variétés parentales, des transgressions étant observées notamment pour les caractéristiques précoces (hauteur et tallage), la production de panicules et la densité paniculaire.

Il sera toutefois nécessaire de poursuivre l'observation et la sélection pendant plusieurs générations afin de confirmer la valeur agronomique réelle de ces descendances. L'approche méthodologique d'optimisation des recombinaisons sera abordée au cours de la discussion.

L'impact des recombinaisons entre les génomes d'*O. sativa* et l'espèce sauvage reste à déterminer, des transgressions pouvant être observées simplement par recombinaisons entre gènes de l'espèce cultivée. L'utilisation des marqueurs électrophorétiques et l'étude d'associations de caractères indépendants sont donc envisagés pour aborder cette question.

3°) ROLE D'*O. LONGISTAMINATA* COMME GENOME PIVOT ENTRE LES TYPES *INDICA* ET *JAPONICA*

Des restrictions de recombinaison ont couramment été observées dans les descendance d'hybrides entre variétés éloignées de type *indica* et *japonica* (OKA, 1953,1983; NAKAGAHRA *et al.*,1972,1974; IKEHASHI, 1982). L'origine de ces restrictions est généralement attribuée à l'action conjuguée de gènes de stérilité gamétophytique et sporophytique provoquant l'élimination des gamètes ou des plantes recombinées.

La population d'hybrides 3 voies que nous avons créée fournit l'occasion d'étudier l'influence des différents facteurs sélectifs précédemment mis en évidence sur la structure génomique des plantes, et plus particulièrement d'étudier le rôle d'*O. longistaminata* comme génome pivot entre les génomes *indica* et *japonica* d'*O. sativa*.

Le jugement des recombinaisons nécessite des marqueurs fiables et discriminants les différents génomes en présence. Les marqueurs électrophorétiques, avec des déterminismes simples, une expression généralement codominante et des électromorphes plus ou moins spécifiques de chaque génome, constituent un matériel de choix pour ce type d'étude, et facilitent la recherche d'éventuelles distorsions de ségrégation telles qu'on en observe dans les croisements entre types *indica* et *japonica*. En ce qui concerne les marqueurs morphologiques, il n'existe pas de caractère qui, pris individuellement, permette une discrimination parfaite des trois groupes. La réaction des glumelles au phénol, caractère oligogénique, présente cependant le pouvoir discriminant entre les types *indica* et *japonica* le plus élevé.

La prise en compte simultanée de plusieurs caractères quantitatifs fait également apparaître une structuration en groupe du pool des variétés d'*O. sativa* (OKA, 1958; JACQUOT et ARNAUD, 1979; de KOCHKO, 1983).

Après avoir étudié les conséquences de la confrontation des génomes au niveau des isozymes, nous nous intéresserons donc au suivi des recombinaisons à partir des marqueurs morphologiques. Deux démarches complémentaires sont envisagées : l'une consiste à situer les hybrides par rapport à des témoins représentatifs de chaque génome; l'autre à définir des formules discriminantes permettant d'estimer l'importance des recombinaisons entre caractères indépendants. La concordance entre les approches morphologique et enzymatique sera ensuite discutée.

		EST-Ca	EST-B	EST-E	EP-A	LAP-E	SDH-A	PGD-A	CAT-A	PGI-A
plante	<i>O. longistaminata</i>	Ca1	B5	E0	A2	E5	A1	A1	A1	A10
Obake	indica	Ca1	B1	E2	A4	E1	A2	A2	A1	A1
Variétés (Pi)										
<i>O. sativa</i>	japonica	Ca2	B1	E1 ou E0	A4	E1 ou E2	A3	A1 ou A3	A1 ou A2	A2

TABLEAU 30 : diversité allélique des parents de la population G1 et origine génétique des électromorphes de la plante Obake

électromorphes

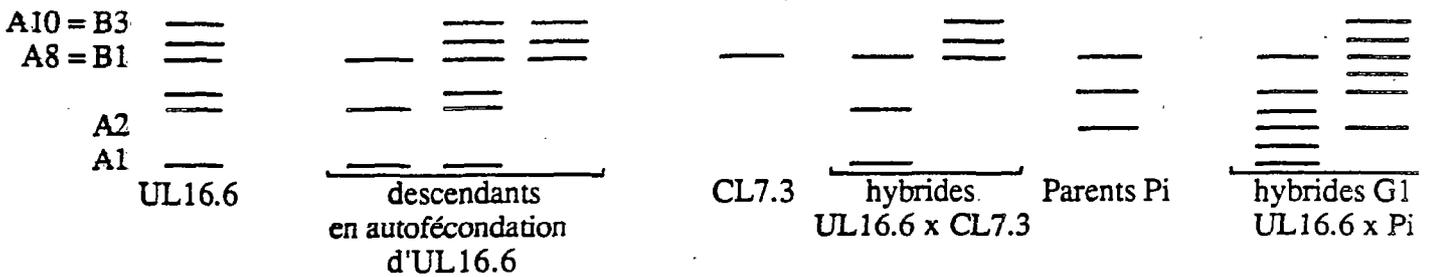


FIGURE 31 : zymogrammes observés pour les PGI

A - Les différentes approches méthodologiques

1. Les marqueurs électrophorétiques

1.1. origine spécifique des électromorphes

Les études du polymorphisme enzymatique d'*O. sativa* (NAKAGAHRA, 1978; SECOND, 1982; GLASZMANN *et al.*, 1984; De KOCHKO, 1987) et d'*O. longistaminata* (GHESQUIERE, 1988) permettent d'attribuer aux différents électromorphes une origine spécifique, et particulièrement de distinguer chez la plante *Obake* les allèles provenant d'*O. longistaminata* de ceux provenant du parent *indica*.

Le TABLEAU 30 récapitule les origines des allèles étudiés : on ne dispose que de deux marqueurs pour lesquels les trois génomes sont individualisés (SDH-A et PGI-A). Le locus SDH-A est partiellement impliqué dans la distinction *indica* - *japonica* : seul l'allèle SDH-A3 se rencontre chez les formes *japonica*, tandis que le géniteur *indica* d'UL16.6 présentait l'électromorphe SDH-A2. On déduit alors simplement l'origine sauvage de l'allèle SDH-A1 chez la plante *Obake*. Trois loci assurent la distinction entre les génomes sauvages et cultivés sans équivoque : les allèles EST-B5, EP-A2 et LAP-E5 sont spécifiques d'*O. longistaminata*. D'autre part, cette espèce ne présente pas de polymorphisme pour les loci PGD-A et CAT-A, où les formes PGD-A1 et CAT-A1 sont toujours représentées. Chez *O. sativa*, l'allèle CAT-A2 est typique des formes *japonica* ancestrales. L'allèle EST-E0 est considéré comme la forme représentative du type ancestral *japonica*, tandis que EST-E2 est caractéristique des variétés *indica*. L'allèle EST-E1, commun aux deux, est fréquemment rencontré chez les variétés intermédiaires d'Afrique. Chez l'espèce sauvage, l'allèle nul est fréquent. La présence d'un allèle nul, commun au génome *O. longistaminata* et à certains parents *japonica* de la population, rend difficile l'interprétation des fréquences alléliques à ce locus.

Les différents zymogrammes étudiés sont présentés par SECOND et TROUSLOT (1980) et GHESQUIERE (1988). Nous ne présenterons que les zymogrammes des PGI, dont l'interprétation est particulière. La détermination du génotype de la plante *Obake* aux loci PGI-A et PGI-B a nécessité l'étude de ses descendants en autofécondation et en croisement avec une plante appartenant à l'espèce *O. longistaminata* au génotype particulier. En effet, le zymogramme d'UL16.6 pour les PGI présente 6 bandes qui, comparées aux zymogrammes d'*O. sativa*, s'interprète comme un génotype A1A1 B1B3 (FIGURE 31). SECOND (1985), a cependant proposé l'existence chez *O. longistaminata* d'allèles du locus A confondus avec les électromorphes B1 et B3 d'*O. sativa*.

L'observation parmi les descendants en autofécondation d'UL16.6 de zymogrammes présentant uniquement des bandes hautes imposent une interprétation de ce type. La question se pose alors de déterminer quel est l'allèle A de cette plante qui est confondu avec un des électromorphes B, c'est-à-dire s'il s'agit de la bande B1 (auquel se superpose l'électromorphe A8) ou de la bande B3 (correspondant à l'allèle A10), et quel est le génotype exact d'UL16.6?

Les effectifs des zymogrammes observés dans différents croisements faisant intervenir UL16.6 sont présentés en ANNEXE XIV, et comparés aux zymogrammes attendus en autofécondation et en croisement avec une plante présentant un zymogramme avec une bande unique interprété comme un génotype PGI-A8B1. Il apparaît que le génotype le plus probable de la plante *Obake* est A1A10 B1B1. Ce résultat est confirmé par l'étude des hybrides G1, où l'on n'observe jamais de zymogramme à 9 bandes, qui traduirait un génotype double hétérozygote d'UL16.6 (A1A10 B1B3).

La détermination du génotype du parent *indica* d'UL16.6 permet donc de le situer dans le groupe "*indica* hybride" défini sur la base de ses génotypes aux quatre loci discriminants CAT-A, EST-E, PGI-A et PGI-B.

1.2. étude des recombinaisons intergénomiques

Le suivi des fréquences alléliques est réalisé en comparant les fréquences observées aux fréquences attendues en absence de sélection. En G1, on étudie la ségrégation gamétique de la plante *Obake*. En G2, les fréquences sont étudiées pour chaque groupe d'hybrides (un groupe est constitué des familles d'hybrides dont les parents *O. sativa* présentent les mêmes génotypes) et au niveau de la population totale, puis comparées aux fréquences théoriques initiales. L'étude des ségrégations pour quelques descendances G3 permet de suivre le devenir des distorsions après une autofécondation et de comparer ce résultat aux fréquences alléliques des descendances en fécondation libre de la G2.

La première génération peut être considérée, en terme de structure génétique, comme un back cross interspécifique, et constitue un matériel intéressant pour étudier les relations entre les différents loci. Les liaisons entre marqueurs sont également étudiées à partir des descendances en autofécondation G3. Lorsqu'une liaison significative est mise en évidence, le pourcentage de recombinaison est estimé au moyen de la méthode du maximum de vraisemblance (ALLARD, 1956). Les résultats sont alors comparés à la situation connue chez *O. sativa*.

L'existence d'associations alléliques préférentielles entre des loci génétiquement indépendants a permis l'identification de pools génétiques séparés par des limitations de recombinaison (GHESQUIERE et SECOND, 1983; GLASZMANN, 1987).

De telles associations permettent de définir des formules discriminantes (notées S_{Ce} et I_{Je}) : la confrontation entre l'espèce sauvage et *O. sativa* est étudiée en sommant les allèles provenant d'*O. longistaminata* pour chaque plante, sur plusieurs loci (TABLEAU 31). En G1, deux formules sont établies : l'une (notée S_{Ce1}) prend en compte cinq loci, l'autre (notée S_{Ce2}) se limite aux loci EP-A, LAP-E et SDH-A. En G2, seule la formule S_{Ce2} est étudiée.

Les recombinaisons entre génomes *indica* et *japonica* sont étudiées suivant deux combinaisons : l'une (I_{Je1}) fait intervenir les trois loci indépendants et discriminants PGI-A, CAT-A et EST-E. Cette formule ne pouvant être étudiée que sur 2 familles, une autre combinaison est établie (I_{Je2}) où le locus PGI-A est remplacé par SDH-A, et étudié sur un effectif plus important. Les variables I_{Je} sont définies par la somme de scores attribués à chaque locus suivant son génotype. La note +2 est attribuée aux génotypes homozygotes *japonica*, tandis que la note -2 correspond aux génotypes *indica*. Les variables I_{Je} varient donc de -6 à +6. En raison du faible nombre de plantes aux notes impaires, les scores sont regroupés deux par deux (TABLEAU 31).

Si l'origine des électromorphes aux loci PGI-A et SDH-A ne pose pas de problème, l'attribution du score "*japonica*" au seul génotype CAT-A2A2, caractéristique des formes ancestrales, va induire un biais, car le génotype opposé (CAT-A1A1) pourra provenir d'un des parents *japonica* présentant ce génotype, ou du génome *O. longistaminata*, en plus de l'origine *indica*. Le même type de biais se retrouve pour le locus EST-E : l'allèle EST-E0 provient non seulement des formes *japonica*, mais aussi de *O. longistaminata*. Les formules I_{Je} définissent donc bien la proximité à des structures alléliques ancestrales, mais elles correspondent à des environnements génétiques hétérogènes.

Les distributions de ces différentes formules sont étudiées, en G1 et G2, et comparées à des distributions attendues.

Une dernière approche consiste à utiliser les marqueurs enzymatiques pour détecter les loci intervenant dans l'expression des caractères morphologiques quantitatifs ("Quantitative Traits Loci", d'après TANKSLEY *et al.*, 1982) ou qualitatifs. Les distributions des caractères quantitatifs, en G1 et G2, sont comparées en regroupant les plantes suivant leur génotype enzymatique. En G2, on étudie l'effet du génotype enzymatique pour chaque famille au moyen d'un test X^2 , puis une analyse de variance est réalisée sur la population totale. Les relations entre les valeurs des formules I_{Je} et S_{Ce}, les caractères morphologiques et la fertilité sont également étudiées.

génération	discrimination	définition	effectifs																															
G1	SAUVAGE-CULTIVE																																	
	SCe1	somme des allèles "sauvages" aux 5 loci: EST-B; EST-E; LAP-E; SDH-A; PGI-A.	n=84 (H0+H7)																															
	SCe2	somme des allèles "sauvages" aux 3 loci: EP-A; LAP-E; SDH-A.	n=89 (H7)																															
G2	SAUVAGE-CULTIVE																																	
	SCe2	somme des allèles "sauvages" aux 3 loci: EP-A; LAP-E; SDH-A.	n=294 (10 familles)																															
	INDICA-JAPONICA																																	
	IJe1	somme des scores aux 3 loci: CAT-A; EST-E; PGI-A.	n=93 (H0 +H7)																															
	IJe2	somme des scores aux 3 loci: CAT-A; EST-E; SDH-A.	n=294 (10 familles)																															
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>scores</th> <th>CAT-A</th> <th>EST-E</th> <th>SDH-A</th> <th>PGI-A</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>-2</td> <td>A1A1</td> <td>E1E2</td> <td>A2A2</td> <td>A1A1</td> </tr> <tr> <td>-1</td> <td></td> <td></td> <td>A1A2</td> <td>A1A10</td> </tr> <tr> <td>0</td> <td>A1A2</td> <td>E1E? ou E2E?</td> <td>A1A1 ou A2A3</td> <td>A10A10 ou A1A2</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> <td>A1A3</td> <td>A2A10</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>A2A2</td> <td>E0E0</td> <td>A3A3</td> <td>A2A2</td> </tr> </tbody> </table>				scores	CAT-A	EST-E	SDH-A	PGI-A	-2	A1A1	E1E2	A2A2	A1A1	-1			A1A2	A1A10	0	A1A2	E1E? ou E2E?	A1A1 ou A2A3	A10A10 ou A1A2	1			A1A3	A2A10	2	A2A2	E0E0	A3A3	A2A2
scores	CAT-A	EST-E	SDH-A	PGI-A																														
-2	A1A1	E1E2	A2A2	A1A1																														
-1			A1A2	A1A10																														
0	A1A2	E1E? ou E2E?	A1A1 ou A2A3	A10A10 ou A1A2																														
1			A1A3	A2A10																														
2	A2A2	E0E0	A3A3	A2A2																														
	REGROUPEMENT																																	
	valeurs de IJe	-6 ou -5	-4 ou -3	-2 ou -1	0 ou 1	2 ou 3	4 à 6																											
	classes	I3	I2	I1	J1	J2	J3																											

TABLEAU 31 : définition des formules discriminantes basées sur les associations de marqueurs enzymatiques indépendants

2. La réaction au phénol

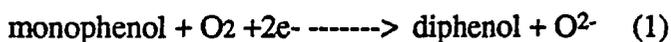
La réaction au phénol est reconnue comme un des meilleurs critères pour discriminer les variétés *indica* (qui présentent une réaction positive) des variétés *japonica* (OKA, 1953; MORISHIMA et OKA, 1981). Facile à réaliser, ce test présente également l'avantage d'avoir un déterminisme simple et constitue donc un marqueur qualitatif intéressant.

Dans un premier temps, nous étudierons les ségrégations observées en G2 et G3 pour ce caractère afin de comparer le déterminisme proposé à celui rencontré chez *O. sativa*. On cherchera ensuite à différencier les groupes définis sur la base de la réaction au phénol. Pour cela, différentes approches sont envisagées :

- comparaison des distributions de différents caractères au sein des deux groupes;
- recherche des caractères discriminant le mieux ces groupes au niveau de chaque famille et de la population G2 totale;
- intégration de ce caractère dans la suite des analyses : au niveau de la répartition des hybrides dans les différents groupes morphologiques définis à partir de témoins, ou dans l'étude des formules discriminantes.

2.1. déterminisme génétique chez *O. sativa*

La réaction consiste à tester la présence dans le grain d'une enzyme phénol oxydante agissant au niveau du premier pas de la réaction chimique suivante (TAKAHASHI, 1985) :



La production de cette enzyme est sous le contrôle d'un gène (Ph) dominant (KURIYAMA et KUDO, 1967), localisé chez *O. sativa* sur le deuxième groupe de linkage (TAKAHASHI et HAMZA, 1983).

2.2. ségrégations observées

La plante *Obake*, dont les deux types parentaux ont une réaction positive, présente ce même comportement. Une seule des dix variétés *japonica* utilisées comme parents mâles de la population présente une réaction au phénol positive (P7).

Les hybrides G1 présentent également tous une réaction positive (100 plantes ont été testées), ce qui confirme l'homozygotie de la plante *Obake* pour ce caractère.

familles d'hybrides	effectifs observés		X2 d'ajustements aux ségrégations		
	PHE +	PHE -	1; 0	3; 1	9; 7
H0	41	21	-	2,60 NS	2,46 NS
H1	31	31	-	20,67 ***	0,98 NS
H2	37	25	-	7,76 **	0,30 NS
H3	45	17	-	0,19 NS	6,72 *
H4	35	27	-	11,38 **	0,00 NS
H5	36	26	-	9,48 **	0,08 NS
H6	39	23	-	4,84 **	1,12 NS
H7	62	0	0 NS	20,67 ***	48,22 ***
H8	38	24	-	6,22 **	0,64 NS
H9	37	25	-	7,76 **	0,30 NS

a: ségrégations observées en G2 (SSD)

descendances	effectifs observés		X2 d'ajustements aux ségrégations		
	PHE +	PHE -	1; 0	3; 1	9; 7
B	37	16	-	0,57 NS	3,97 *
C	38	21	-	3,53 NS	1,59 NS
G	30	29	-	18,35 ***	0,71 NS
I	51	0	0 NS	17,00 ***	39,60 ***
L	44	0	0 NS	14,70 ***	34,20 ***
N	32	21	-	6,04 *	0,37 NS
R	36	22	-	5,17 *	0,81 NS
S	29	26	-	14,55 ***	0,29 NS

b : ségrégations observées en G3 dans les descendances de plantes PHE +

TABLEAU 32 : ségrégations observées pour la réaction au phénol en G2 et G3
tests d'ajustements à différentes ségrégations

Le TABLEAU 32a récapitule les ségrégations observées en G2 (en SSD).

Outre la famille H7, chez laquelle toutes les plantes ont une réaction positive (notée PHE+), seules deux familles présentent des ségrégations qui s'ajustent à un modèle monogénique; les ségrégations observées pour les 7 autres familles s'ajustent à une ségrégation 9 : 7, correspondant à l'action de 2 gènes complémentaires indépendants (dans le cas d'une F2). Si l'on tient compte de la situation réelle où, en G2, une proportion proche de 75% des plantes provient d'intercroisement et où seules 9 des 10 variétés parentales ont une réaction négative, les effectifs attendus varient légèrement, mais les résultats des tests d'ajustement ne changent pas.

En G3, 8 descendances sont issues de plantes ayant une réaction positive. On observe 3 types de ségrégations (TABLEAU 32b), confirmant les résultats de la G2.

Si on note P1 et P2 les allèles dominants correspondants à la réaction positive (et p1 et p2 les allèles récessifs), en G2 les plantes dont la réaction est positive auront un des génotypes suivants :

P1P1P2P2, P1P1P2p2, P1p1P2P2 ou P1p1P2p2;

tandis que les génotypes non complémentés auront une réaction négative (notée PHE-) :

p1p1P2P2, p1p1P2p2, P1P1p2p2, P1p1p2p2 ou p1p1p2p2.

Si ce modèle s'ajuste bien aux résultats observés, il est difficile de l'adapter à la situation connue chez *O. sativa*, où seul le locus Ph est responsable de la réaction positive des variétés *indica*. Si on veut adapter les ségrégations observées à une situation monogénique, il est nécessaire de supposer une très forte pression de sélection contre la réaction positive. Après avoir mis en évidence les phénomènes sélectifs au niveau des isozymes, on pourra juger le réalisme d'une telle hypothèse.

3. Les caractères morphologiques

3.1. définition de types morphologiques à partir de témoins

L'ignorance des caractéristiques morphologiques des géniteurs d'UL16.6 rend difficile le suivi des recombinaisons au niveau des caractères quantitatifs. Si l'espèce sauvage est peu polymorphe du point de vue morphologique (GHESQUIERE, 1988), le groupe *indica*, même si on se limite aux variétés africaines, présente une grande variabilité (JACQUOT et ARNAUD, 1979; De KOCHKO, 1983). Nous avons donc tenté de cerner la diversité des plantes issues de la prospection dans la région du Lac Tchad d'où provient la plante *Obake* (BORGEL et SECOND, 1978), afin de pouvoir définir un type *indica* proche du parent d'UL16.6.

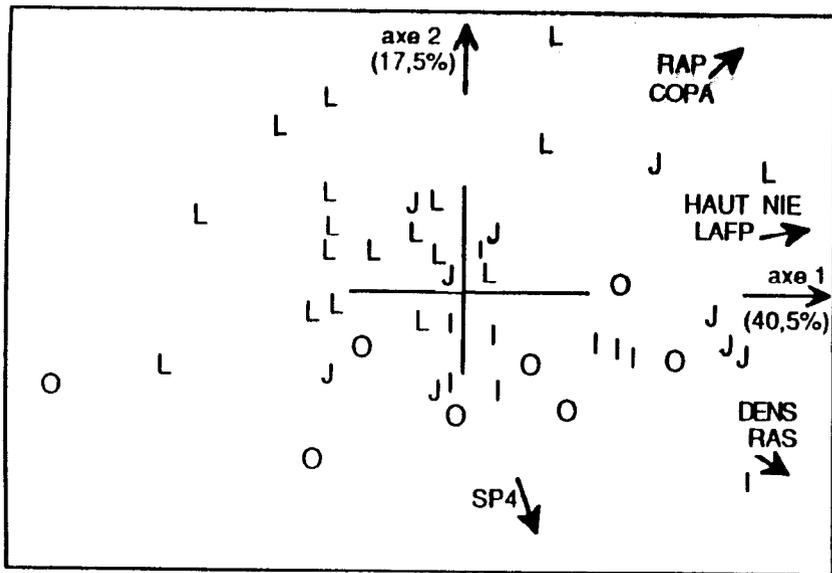


FIGURE 32 : plans (1,2) et (3,4) d'une A.C.P. réalisée sur 44 témoins :
 9 variétés japonica (J), 9 indica (I), 8 plantes Obake et 18 O.longistaminata

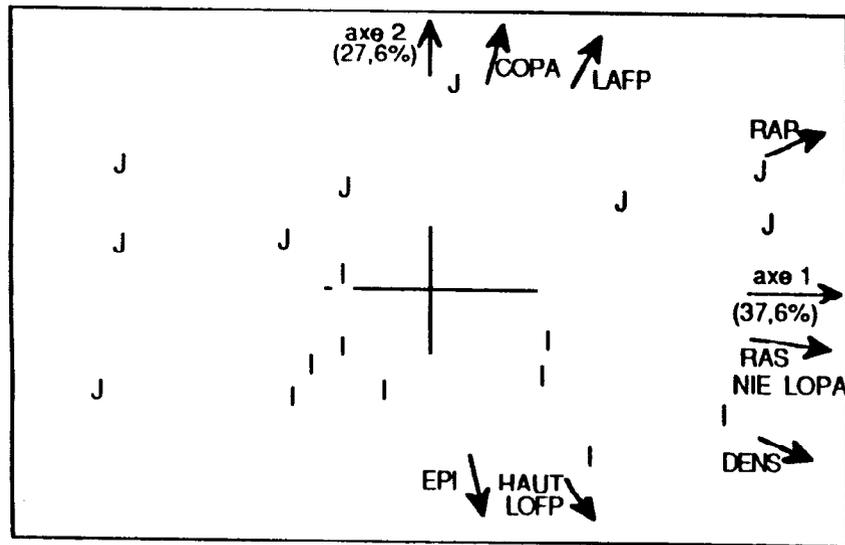
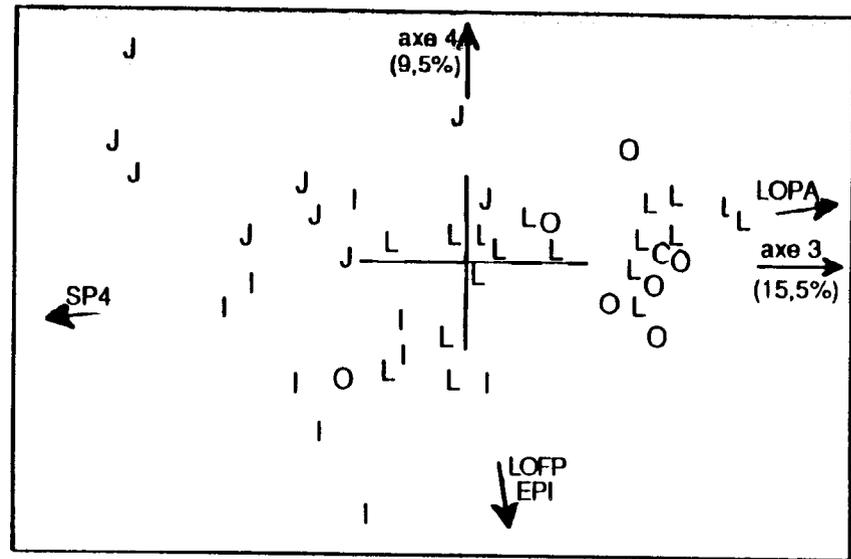


FIGURE 33 : plan (1,2) d'une A.C.P. réalisée sur
 9 variétés japonica et 9 indica

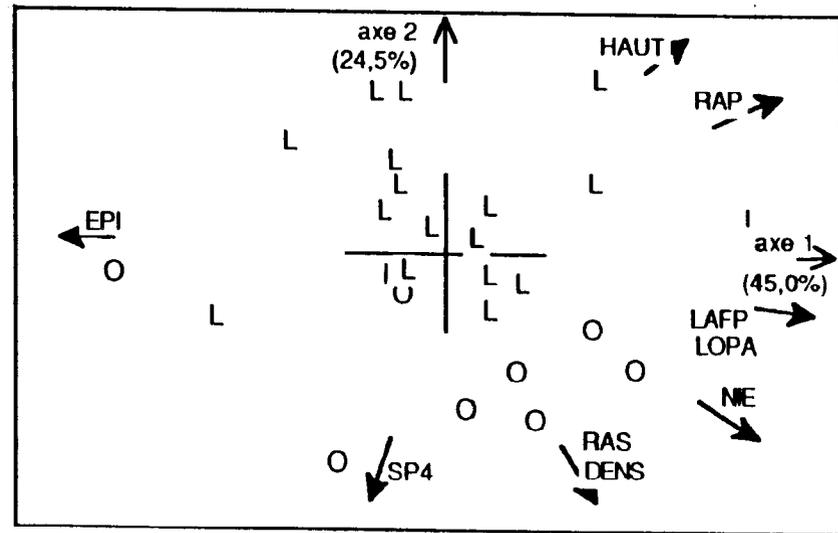


FIGURE 34 : plan (1,2) d'une A.C.P. réalisée sur
 18 échantillons O.longistaminata et 8 Obake

3.1.1. Matériel et méthodes

Souhaitant caractériser chacun des types morphologiques (*japonica*, *indica*, *Obake* et sauvage), nous avons retenu un échantillon comprenant :

- 8 plantes *Obake* issues de la même région et de la même population (notée UL16) que la plante que nous utilisons comme géniteur;
- 18 plantes à rhizomes de cette population UL16, jugées représentatives d'*O. longistaminata*.
- 9 variétés appartenant au pool *indica*, collectées dans la même région. L'une de celles-ci, dont la population UL16 était adventice, correspond sans doute au géniteur cultivé d'UL16.6;
- 9 des 10 variétés de riz pluvial utilisées comme géniteur de la population G1.

Les caractéristiques morphologiques de ces plantes ont été recueillies au cours de deux essais différents : au cours d'un essai comparatif de variétés traditionnelles africaines pour les échantillons d'*O. sativa* (De KOCHKO, 1983), tandis que les plantes de la population UL16 (plantes *Obake* et à rhizomes) ont été observées en pot, à partir de semis effectués en juin 1984 (GHESQUIERE, non publié; ROBIN, 1986). Les mesures n'étant pas effectuées dans les mêmes conditions, ces résultats doivent être interprétés avec précaution; afin d'étudier la position des hybrides G1 et G2 par rapport à ces plantes, les données sont centrées par rapport aux moyennes des 9 variétés *japonica* communes à l'essai de 1983 et à l'essai G1.

Dans un premier temps, différentes analyses multivariées (Analyse en Composantes Principales et Analyse Factorielle Discriminante) sont réalisées afin de caractériser chaque groupe et de définir les coordonnées des axes discriminants. Ces combinaisons de caractères sont ensuite utilisées pour étudier la répartition des hybrides G1 et G2 dans chacun des groupes. Lorsque la distance entre un point hybride et chacun des groupes est jugée trop importante (distance > 10), ce point est classé dans une catégorie supplémentaire.

3.1.2. Caractéristiques des groupes

L'Analyse en Composantes Principales réalisée sur les 44 témoins fournit une première image des relations entre les quatre groupes (FIGURE 32). Le premier plan représente 58% de la variabilité totale : l'axe 1 sépare, au niveau des moyennes des groupes, les plantes à rhizomes et *Obake* des variétés cultivées, tandis que l'axe 2 permet de distinguer les plantes *Obake* des plantes à rhizomes et les variétés *indica* des *japonica*. La distinction entre formes sauvages et cultivées se confirme au niveau du plan 3-4. On observe toutefois une grande diversité au sein de chaque groupe.

Les A.C.P. réalisées sur les échantillons de plantes sauvages et introgressées d'une part, et sur les variétés d'*O. sativa* d'autre part affinent cette distinction (FIGURES 33 et 34).

génération (effectifs)	formule	variable	sens de variation		variables au sens inversé
			indica ou sauvage	japonica ou cultivé	
G2 INDICA-JAPONICA					
n=252 (10 familles)	Ijm2	LAFP	-	+	
		LAGR	-	+	
		SP4	+	-	*
		EPI	+	-	*
G2 SAUVAGE-CULTIVE					
n=252 (10 familles)	SCm2	COPA	-	+	
		ARIS	+	-	*
		COLO	+	-	*
		PER2	+	-	*
G3 INDICA-JAPONICA					
n=540 (20 lignées)	IJm3	LAFP	-	+	
		SP4	+	-	*
		EPI	+	-	*
G3 SAUVAGE-CULTIVE					
n=540 (20 lignées)	SCm3	COPA	-	+	
		NIE	-	+	
		PP24	-	+	
G3 SAUVAGE-CULTIVE (qualitatif)					
n=540 (20 lignées)	SCq3	EGRE	+	-	*
		ARIS	+	-	*
		EXST	+	-	*
		COLO	+	-	*
		OUPA	+	-	*
		PPMA	-	+	
méthode de calcul	1: les n variables Yn sont centrées et réduites: $X_n = (Y_n - m)/s$ (changement de sens pour les variables marquées * : $X_n = (m - Y_n)/s$) 2: calcul de la formule Ijm ou SCm = $(\sum X_n)/n$				
	SCq3 = somme des valeurs des variables qualitatives après transformation en 0 (sauvage); 1 (intermédiaire); 2 (cultivé)				

TABEAU 33 : méthode de calcul des formules discriminantes basées sur les associations de caractères morphologiques indépendants

On peut donc caractériser chaque groupe :

Les plantes spontanées (strictement sauvages et introgressées) ont des panicules longues, peu ramifiées et peu nombreuses. La production de panicules est plus lente chez les plantes à rhizomes, qui se caractérisent également par une structure paniculaire plus riche en ramifications primaires que les plantes *Obake*. Celles-ci ont par contre des panicules plus denses.

Les variétés d'*O. sativa* se différencient de ces deux groupes par un nombre d'épillets plus important, lié à une architecture paniculaire plus ramifiée, et un tallage plus élevé.

Les variétés *japonica* se distinguent du groupe *indica* par un cycle plus court, un tallage moins important, des feuilles paniculaires moins longues et plus larges, une structure paniculaire plus compacte, mais moins dense que les variétés *indica*.

3.2. définition de formules discriminantes à partir de combinaisons de caractères indépendants

Une étude des recombinaisons entre caractères, parallèle à celle réalisée à partir des marqueurs électrophorétiques, est envisagée. Elle consiste à définir des formules discriminant d'une part les structures sauvages et cultivées (SCm) et, d'autre part, les types *indica* et *japonica* (IJm). Ces formules sont établies sur la base de caractères discriminant les génomes, faiblement corrélés entre eux.

L'objectif de cette analyse étant de se baser sur des caractères indépendants entre eux, seuls certains des caractères étudiés sur les témoins sont retenus dans la définition des formules (SP4, LAFF, EPI et COPA). Les analyses portant sur les témoins, réalisées dans des conditions et avec des objectifs différents, la liste des caractères discriminants a été complétée à partir de données bibliographiques : il s'agit de la largeur des grains (LAGR), du nombre d'insertion d'épillets (NIE), de la pérennité (exprimée en G2 par PER2 et en G3 par PP24) et de différentes caractéristiques de l'espèce sauvage. En G2, on ne dispose que des notations d'aristation et de pigmentation; ces données sont donc intégrées à la formule SCm2. En G3, 6 caractéristiques sauvages ont été notées qualitativement et permettent de constituer un index séparé SCq3. Les notes sont transformées de façon à ce que 2 corresponde au type cultivé et 0 à la caractéristique sauvage, puis les scores des 6 variables sont sommés. SCq3 variera donc théoriquement de 0 à 12.

Les variables retenues et leurs sens de variation pour chaque formule sont présentés dans le TABLEAU 33.

	9 variétés japonica		9 variétés indica		probabilité de classification erronée
	m	(s)	m	(s)	
EPI	80	(8,1)	97	(12,0)	0,298
SP4	20,8	(6,8)	25,3	(7,4)	0,415
LAFP	2,56	(0,33)	1,81	(0,57)	0,268
LAGR	3,09	(0,30)	2,77	(0,30)	0,356
IJm2	0,508	(0,533)	-0,51	(0,478)	0,239
IJm3	0,521	(0,557)	-0,521	(0,386)	0,221

TABLEAU 34 : test du pouvoir discriminant des variables intervenant dans les formules IJm2 et IJm3 et de ces formules sur un échantillon de 18 variétés (9 indica et 9 japonica)

Les caractères choisis sont, dans un premier temps, centrés et réduits afin d'obtenir la même étendue de variation pour chacun d'eux. Les variables sont transformées, si nécessaire, de façon à ce que les valeurs positives correspondent toujours au type cultivé ou *japonica* (suivant la formule dans laquelle elle intervient). Les formules SCm et IJm sont ensuite calculées pour chaque individu, comme la moyenne des valeurs des différents caractères discriminants.

Le pouvoir discriminant des caractères intervenant dans la définition de IJm2 et IJm3, et celui de ces formules est vérifié sur l'échantillon des 18 variétés étudiées par De KOCHKO (1983). Pour chaque variable, l'aptitude à discriminer les groupes est représentée par la probabilité de classification erronée, donnée par la fonction de répartition de la distribution normale réduite de paramètre $d/2s$ où d est la différence entre les moyennes des groupes et s l'écart-type moyen intra-groupe (SANO *et al.*, 1980). Le TABLEAU 34 montre l'amélioration du pouvoir discriminant au niveau des formules IJm : la probabilité de classification erronée, variant suivant les caractères de 0,27 à 0,42, passe à 0,24 pour IJm2 et 0,22 pour IJm3.

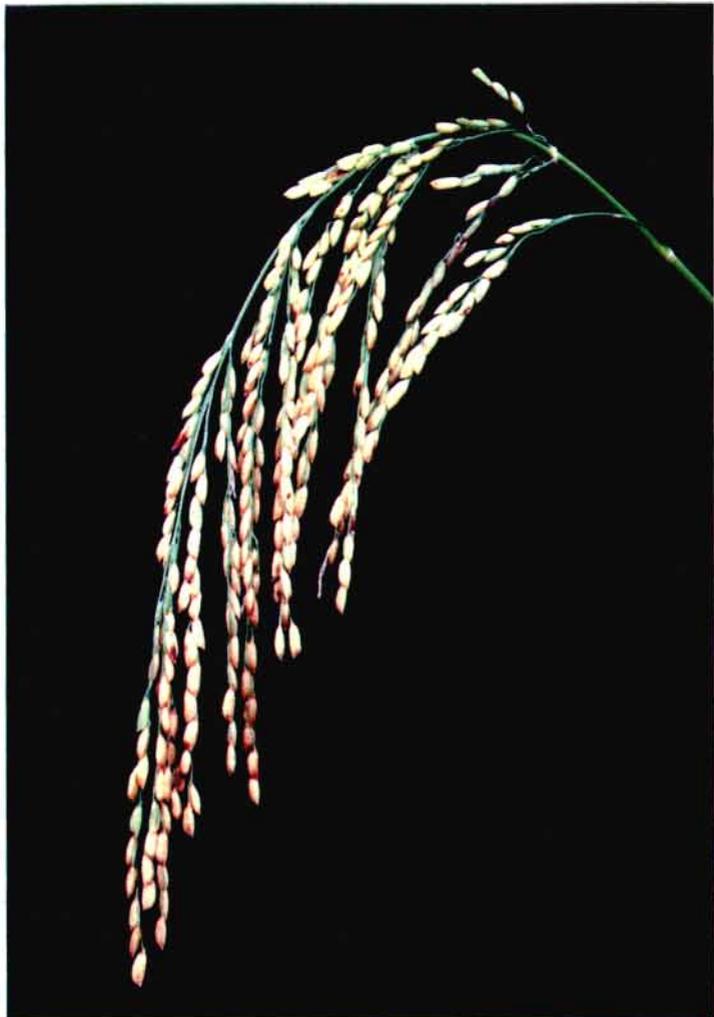
Les variables intervenant dans la discrimination sauvage-cultivée présentent pour la plupart des variations discontinues, et seul le pouvoir discriminant de la compacité paniculaire et du nombre d'insertions d'épillets est vérifié : on observe des probabilités de classification erronées relativement élevées (respectivement 0,36 et 0,39), mais compensées par les autres variables.

Ces différentes formules sont étudiées à plusieurs niveaux :

- relation entre les différentes formules;
- valeur des index suivant la réaction au phénol en G2;
- relation entre les index et la fertilité des plantes.

LOCUS	allèles	H7		H0		H0 + H7	
		eff	X2	eff	X2	fréq. de l'allèle	X2
EST-B	B1	54	*	49	NS	0,428	NS
	B5	35		42			
EST-E	E2	52	NS	52	NS	0,422	*
	E0	37		39			
LAP-E	E1	58	**	50	NS	0,400	**
	E5	31		41			
EP-A	A4	48	NS	-		0,460	NS
	A2	41		-			
SDH-A	A2	39	NS	44	NS	0,539	NS
	A1	50		47			
PGD-A	A2	50	NS	-		0,438	NS
	A1	39		-			
PGI-A	A1	47	NS	58	**	0,417	**
	A10	42		33			

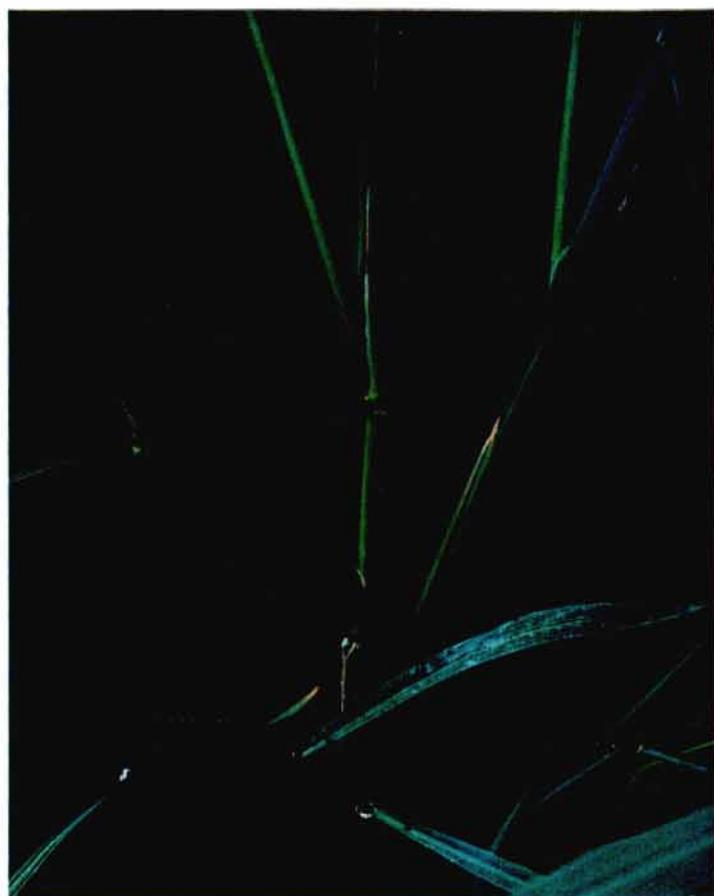
TABLEAU 35 : ségrégation gamétique de la plante Obake effectifs observés en G1 chez 2 familles d'hybrides tests X2 de la ségrégation 1:1



panicule d'*O.sativa*



panicule d'*O.longistaminata*



ramifications aériennes chez un hybride G1



épillets d'un hybride G3

B - Evolution des structures génétiques à travers les marqueurs enzymatiques

1. Evolution des fréquences alléliques

1.1. ségrégation gamétique de la plante *Obake*

Les ségrégations observées chez deux familles d'hybrides G1, pour 7 et 5 loci, s'ajustent à des ségrégations 1 : 1 pour 4 loci (TABLEAU 35). On observe cependant pour chaque locus, excepté le locus SDH-A, une plus faible fréquence de l'électromorphe *O. longistaminata*. Lorsqu'on réunit les résultats des deux familles, ce défaut est faiblement significatif pour les loci EST-E et PGI-A, et plus important pour le locus LAP-E.

Ce résultat concorde avec les observations de GHESQUIERE (1988) qui, comparant les deux types de back cross (sur *O. sativa* ou *O. longistaminata*), montre une tendance à favoriser les allèles de l'espèce récurrente. Cependant ces distorsions sont faibles et n'apparaissent significatives qu'en sommant les ségrégations sur 5 loci (EP-A, LAP-E, SDH-A, EST-E, PGD-A).

Par ailleurs, cet auteur met en évidence une liaison entre le marqueur LAP-E et le gène D1, responsable, avec son complémentaire D2, de l'avortement des hybrides interspécifiques. Etant donnée la structure double hétérozygote de la plante *Obake*, la fréquence observée de l'allèle sauvage LAP-E5 correspond au pourcentage de recombinaison entre le locus LAP-E et le gène D1. C'est effectivement pour ce locus que l'on observe les distorsions les plus significatives; celles-ci restent légèrement inférieures aux observations de GHESQUIERE (1988) qui trouve près de 30% de recombinés.

1.2. fréquences alléliques en G2

Les associations alléliques observées en G2 proviennent de la ségrégation et des recombinaisons, en G1, entre les allèles *japonica* d'une part, et les allèles *indica* ou *O. longistaminata* d'autre part. Le TABLEAU 36 présente les fréquences alléliques pour chaque groupe d'hybrides et pour chaque parcelle, SSD et Bulk. La SSD fournit un échantillon équilibré de descendants de la G1. Pour chaque groupe d'hybrides, les effectifs observés sont comparés aux effectifs attendus en absence de sélection. Lorsque ces fréquences dépendent du mode de reproduction, deux cas extrêmes sont envisagés, autofécondation stricte et panmixie. Les fréquences totales sont comparées aux fréquences alléliques initiales théoriques.

LOCUS	allèles	théorique	SSD	BulK
		fr. att. pop. tot.	fr. obs. pop. tot.	fr. obs. pop. tot.
EST-Ca	1	0,50	0,435	0,488
	2	0,50	0,565	0,512
	X2		*	NS
EST-B	1	0,75	0,740	0,780
	5	0,25	0,260	0,220
	X2		NS	NS
LAP-E	1	0,70	0,830	0,820
	5	0,25	0,140	0,140
	2	0,05	0,030	0,040
	X2		**	**
SDH-A	1	0,25	0,195	0,230
	2	0,25	0,288	0,250
	3	0,50	0,517	0,520
	X2		*	NS
EP-A	4	0,75	0,837	0,865
	2	0,25	0,163	0,135
	X2		***	***
PGD-A	1	0,60	0,496	0,462
	2	0,25	0,326	0,362
	3	0,15	0,178	0,176
	X2		***	***
PGI-A	2	0,50	0,508	0,590
	1	0,25	0,306	0,320
	10	0,25	0,186	0,090
	X2		NS	***
CAT-A	1	0,80	0,767	0,758
	2	0,20	0,232	0,242
	X2		NS	NS

TABLEAU 36 : fréquences alléliques observées en G2 en SSD et BulK tests d'ajustement aux fréquences théoriques

On observe une perte significative en allèles *O. longistaminata* pour 5 des 8 loci étudiés (LAP-E, SDH-A, EP-A, PGD-A et EST-Ca). Si les pertes sont d'intensité variables suivant les groupes d'hybrides, elles se rencontrent dans chaque groupe. Le locus LAP-E apparaît encore le plus touché par les pertes en allèle sauvage, mais les loci EP-A, SDH-A et PGD-A présentent des distorsions également importantes. La situation observée en G1 concernant le locus SDH-A semble s'être inversée.

Les loci SDH-A, PGI-A et PGD-A permettent de distinguer les allèles *indica* des allèles *japonica*. On n'observe pas d'écart entre les fréquences observées et attendues pour les deux types d'électromorphes. Les allèles SDH-A2 et SDH-A3 bénéficient de façon semblable des pertes en SDH-A1; l'accroissement de la fréquence de l'allèle PGI-A1, qui semble plus favorisé que l'allèle *japonica*, provient du déséquilibre observé au niveau de la ségrégation de la plante *Obake*. Cette situation se répète probablement pour le locus PGD-A, bien que la situation soit plus complexe, l'allèle sauvage PGD-A1 correspondant également à l'électromorphe *japonica* d'un certain nombre de parents.

La comparaison des fréquences observées en SSD et en Bulk renseigne sur l'influence du mode de reconstitution des générations sur les fréquences alléliques de la population (TABLEAU 36 et ANNEXE XV).

Différentes situations sont rencontrées :

- pour les loci EST-B et CAT-A, les fréquences s'ajustent avec les fréquences attendues dans les deux cas;
- pour les loci EST-Ca et SDH-A, les distorsions mises en évidence en SSD ne sont plus significatives en Bulk;
- les pertes qui concernent toujours le même type d'allèle en SSD, peuvent changer de sens suivant les groupes d'hybrides en Bulk; il semble donc que les distorsions pour ces loci sont aléatoires et proviennent seulement des contributions variables des plantes G1 à la G2;
- certaines distorsions se voient accentuées en Bulk (cas des pertes en allèles EP-A2, PGD-A1 et surtout PGI-A10); il semble alors intéressant de rechercher un éventuel effet du génotype sur la fertilité des hybrides (voir ci-dessous : D, 1, 3).

1.3. devenir des distorsions en G3

L'étude des quelques descendance en fécondation libre, utilisées pour l'estimation du taux d'intercroisement en G2, révèle une stabilisation des distorsions. On n'observe plus de pertes en électromorphes LAP-E5 ou PGI-A10. Seuls les loci EST-B, SDH-A et EP-A présentent des pertes en allèles sauvages. La détermination des génotypes étant réalisée sur des plantules, il n'est pas tenu compte des phénomènes sélectifs agissant entre la germination et le stade adulte.

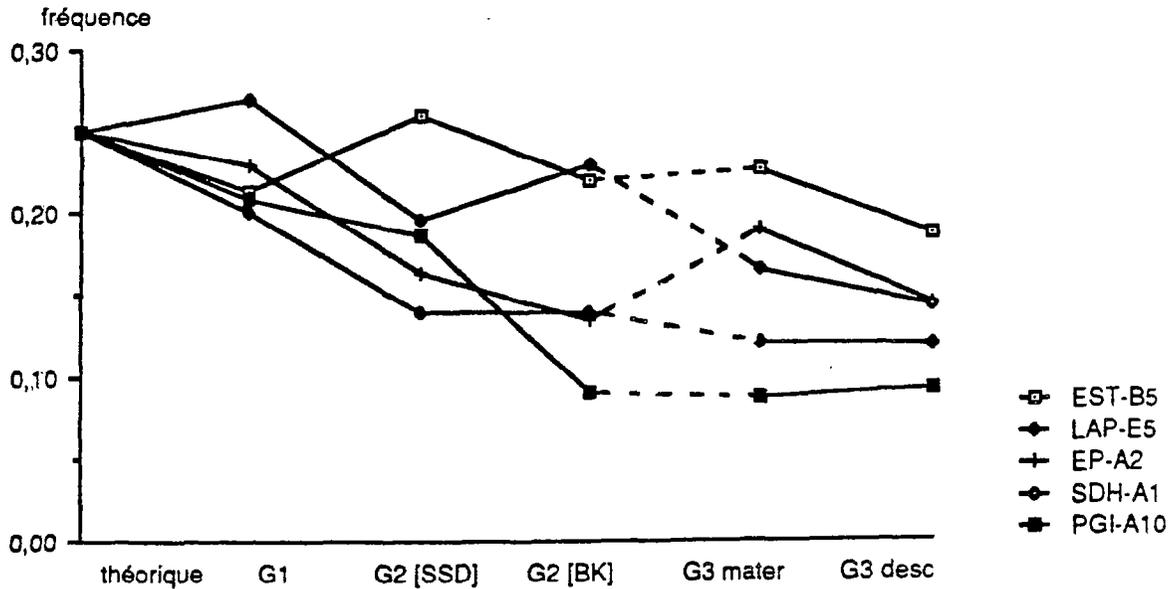


FIGURE 35 : évolution des fréquences des allèles *O. longistaminata* au cours des générations

G3 mater : échantillon de plantes G2, mères des descendances en fécondation libre (G3 desc.)

locus	génotype du parent G2	DESC effectif	C 47	G 55	I 51	J 55	L 48	M 45	N 51	Q 46	S 46	Z 60
EST-Ca	Ca1 Ca2	Ca1	0,35** (-)	0,42			0,46					0,46
EST-B	B1 B5	B5			0,45		0,40	0,37*	0,48 (+)			0,62*
EST-E	E1 E2	E2		0,45		0,56	0,45					0,44
LAP-E	E2 E5 E1 E5	E5 E5			0,37***							0,37**
SDH-A	A1 A3 A2 A3	A1 A2	0,40			0,51			0,5		0,57	0,56
PGD-A	A1 A3 A2 A3 A1 A2	A1 A2 A1		0,75*** (-)	0,65**		0,48	0,60		0,42		0,52
PGI-A	A1 A2 A2 A10 A1 A10	A1 A10 A10	0,51			0,45				0,50 (-)	0,52	0,48
CAT-A	A1 A2	A1			0,46 (+)	0,49		0,45	0,36**		0,52	0,60*
EP-A	A2 A4	A2			0,43	0,49	0,51		0,36**	0,29***		

TABLEAU 37 : fréquences alléliques observées dans 10 descendances G3 en autofécondation; niveaux de signification des distorsions test d'association aléatoire des gamètes:

(+): excès significatif d'hétérozygotes

(-): défaut significatif d'hétérozygotes

La FIGURE 35 récapitule l'évolution des fréquences des allèles *O. longistaminata* au cours des trois générations.

Le devenir des distorsions est également étudié par le suivi des descendance en autofécondation, lors de l'essai G3, de différents génotypes. Etant donné les faibles effectifs impliqués par descendance, seules de fortes distorsions apparaissent significatives (TABLEAU 37). Onze des 43 combinaisons présentent des distorsions significatives, mais l'allèle favorisé est variable. On observe toujours une perte importante de l'électromorphe LAP-E5. Pour les autres loci, les situations varient suivant les génotypes parentaux : ainsi, l'allèle EST-B5 apparaît en excès dans une descendance, en défaut dans une autre et 3 descendance ne présentent pas de biais. On retrouve également ces trois situations pour le locus CAT-A; de même l'allèle EP-A2 n'est en défaut que dans 2 combinaisons sur 5. Les loci EST-E, PGI-A et SDH-A, respectivement étudiés sur 4, 6 et 5 descendance, ne montrent aucune distorsion.

Les combinaisons strictement *indica* - *japonica* peuvent être étudiées dans les descendance de plantes EST-E1E2, SDH-A2A3, PGD-A2A3 et PGI-A1A2 : sur 13 combinaisons, une seule montre une distorsion significative en faveur de l'allèle PGD-A2. Il est intéressant de remarquer que les deux loci EST-E et PGI-A, fortement impliqués dans la discrimination des deux sous-espèces, ségrégent normalement.

Le test d'association aléatoire des gamètes se révèle significatif dans 5 cas, correspondant à des loci différents et traduisant tantôt un excès d'hétérozygotes (pour deux combinaisons), tantôt l'inverse. Ce phénomène n'apparaît pas lié aux distorsions de fréquences alléliques, et reste marginal.

2. Les relations entre loci

2.1. recherche de liaisons génétiques

L'étude des liaisons entre isozymes est effectuée à partir des hybrides de première génération et des 10 descendance analysées en G3. La recherche de liaisons faisant intervenir les loci EST-Ca et CAT-A n'est réalisée qu'en G3.

En G1, pour la famille H7, deux couples présentent des associations non aléatoires avec un excès de génotypes recombinés :

- SDH-A / PGD-A : $p = 0,640$
- SDH-A / LAP-E : $p = 0,618$ (p : pourcentage de recombinaison)

chromosome groupe de linkage
(Shastry (Kinoshita,1984)
et al., 1964)

1	3	ICD; EST-B; GOT-1;
2	10	LAP-E
3	1	CAMP-3/ EST-E___ PGI-B_____ POX-5__ CAT-A/EP-A
4	11-12	PGI-A
6	d-33	SDH-A __POX-2__ ACP-1/2
7	4	EST-Ca
8	Sug	AMP-2
11	8	ADH1__ PGD-A
12	2	Ph

FIGURE 36 : localisation de différents marqueurs au sein du génome O.sativa

les marqueurs étudiés ici sont représentés en gras;
la localisation des gènes Ph (responsable de la réaction au phénol)
et C (intervenant dans la pigmentation) est indiquée

_____ liaison détectée
/ liaison étroite
; liaison inconnue

d'après SECOND et MORISHIMA (1981); SANO et MORISHIMA (1984);
PHAM (1984); SANO et BARBIER (1985); RANJHAN et al. (1986);
ISHIKAWA et al. (1986, 1987); PHAM et al. (en prép.); WU et al. (1988).

Le locus SDH-A est le seul en G1 dont l'allèle sauvage n'est pas en défaut, contrairement aux deux loci PGD-A et LAP-E auxquels il semble lié. Pour la famille H0, aucune liaison significative n'est mise en évidence, cependant le couple SDH-A / PGD-A n'est pas étudié.

En G3, les deux liaisons précédentes, testées sur une descendance, apparaissent non significatives (les taux de recombinaisons sont : $p=0,48$ avec PGD-A et $p=0,45$ avec LAP-E). Il semble donc qu'il s'agisse plus d'une pseudo-liaison, probablement causée par les différents phénomènes sélectifs rencontrés en G1, que d'une liaison génétique réelle.

En G3, pour 36 couples de marqueurs testés sur 1 à 4 descendance, une liaison significative n'est mise en évidence que pour deux paires de loci (ANNEXE XVI).

- Le couple EST-B/PGD-A apparaît significativement lié dans une seule des 4 combinaisons testées (les différentes estimations de p sont : $p=0,35$; $p=0,38$; $p=0,46$ et $p=0,54$). La moyenne des 4 combinaisons fournit une estimation relativement élevée ($p=0,45$), que l'on interprète comme une pseudo-liaison.

- Les loci EP-A et CAT-A apparaissent, en revanche, étroitement liés : les deux descendance étudiées fournissent des estimations de $p=0,043$ ($sp=0,02$) et $p=0,126$ ($sp=0,03$), soit en moyenne $p=0,084$. L'homogénéité de la population G1 pour le locus CAT-A, ne permettait pas de détecter cette liaison. En G2, seules les combinaisons gamétiques EP-A2/CAT-A2 correspondaient à un génotype recombiné, détectable uniquement dans les familles dont le parent cultivé était CAT-A2.

2.2. comparaison à la situation chez *O. sativa*

La localisation des marqueurs électrophorétiques sur la carte génétique du riz est relativement récente pour de nombreux loci; celle-ci se fonde généralement sur l'étude de descendance (PHAM *et al.*, en préparation, pour synthèse), mais c'est grâce à la série complète des lignées trisomiques étudiée par KHUSH *et al.* (1984) que de nombreux marqueurs ont pu être localisés précisément : c'est le cas notamment des loci PGI-A et EST-Ca (RANJHAN *et al.*, 1986) et EST-B et PGD-A (WU *et al.*, 1988).

L'étude des liaisons entre marqueurs impose fréquemment l'analyse de descendance de croisements entre formes éloignées d'*O. sativa*, présentant différents électromorphes. Les phénomènes de stérilité ou de limitation des recombinaisons entre marqueurs indépendants peuvent alors être responsables de pseudo-liaisons ou biaiser les estimations : NAKAGAHRA (1972) et OMURA (1982) ont observé que les combinaisons *indica-japonica* fournissent des pourcentages de recombinaisons généralement inférieurs à ceux estimés sur des combinaisons intra-groupes.

La localisation des différents isozymes étudiés ici, et de quelques autres marqueurs, telle qu'elle apparaît au vu des travaux récents concernant *O. sativa*, est présentée à la FIGURE 36. Les 9 marqueurs que nous étudions se répartissent sur 7 chromosomes. Les marqueurs partiellement liés (EST-B et PGD-A; SDH-A et LAP-E ou SDH-A et PGD-A) dans notre étude apparaissent finalement bien indépendants et localisés sur des chromosomes différents.

PHAM *et al.* (en préparation) ont étudié la liaison entre CAT-A et EP-A sur un croisement entre deux variétés appartenant aux types *indica* et *japonica* ; ils ont observé une forte distorsion au locus CAT-A et estimé la distance entre les deux loci de $p=0,022$.

Nous n'avons pas observé de liaison entre le locus EST-E et les deux loci CAT-A et EP-A. Ce résultat s'accorde avec ceux de SECOND et MORISHIMA (1981) et PHAM *et al.* (en préparation) : bien que situés sur le même chromosome, les distances importantes entre ces loci s'interprètent comme une indépendance génétique, mais les liaisons observées avec les marqueurs intermédiaires (PGI-B et POX-5) confirment la localisation chromosomique.

2.3. les associations multilocus

2.3.1. la discrimination sauvage-cultivé

Les distributions des variables SCe1 et SCe2 en G1, et de SCe2 en G2, s'ajustent bien aux distributions attendues en cas d'indépendance entre les marqueurs concernés. La perte en allèles sauvages apparaît donc indépendante d'un locus à l'autre et il ne semble pas exister d'association multiallélique. Le nombre moyen d'allèles *O. longistaminata* aux trois loci définissant SCe2 passe de 0,229 en G1 à 0,163 en G2, traduisant globalement les distorsions observées pour chaque locus.

2.3.2. la discrimination *indica* - *japonica*

Les distributions en G2 des variables IJe1 et IJe2 s'ajustent également aux distributions attendues en cas d'indépendance entre les loci. Les variables IJe et SCe sont liées en raison, d'une part de la relation entre CAT-A et EP-A et d'autre part, de l'intervention de SDH-A dans la définition des deux formules.

2.3.3. les associations multilocus en G3

Lors de la classification des variétés traditionnelles de riz africain, sur la base du polymorphisme aux quatre loci PGI-A, PGI-B, CAT-A et EST-E, seules 8 des 16 combinaisons possibles sont rencontrées (SECOND, 1982; GHESQUIERE et MIEZAN, 1982). L'association de la réaction au phénol à ces combinaisons augmente la part des structures "hors-types" (non représentées parmi les variétés étudiées).

La diversité enzymatique des descendance G3 fournit l'occasion d'étudier de telles combinaisons. Ainsi, par exemple, la descendance S, en ségrégeant pour la réaction au phénol et pour les loci CAT-A et PGI-A, présente des descendants dont les structures varient du type "*indica* hybride" au type "*japonica* ancestral". Malgré le faible effectif étudié, la majorité des "hors-types" attendus sont rencontrés; on observe toutefois un léger défaut en structure "hors-types" et un excès de combinaisons parentales (TABLEAU 38).

Ce résultat est proche de celui obtenu par PHAM (1984), qui n'observe pas de défaut significatif en "hors-type" dans la descendance F2 d'un croisement *indica* - *japonica*. Il semble toutefois important de suivre de telles descendance sur plusieurs générations d'autofécondation, afin d'étudier la mise en place des facteurs responsables de l'isolement entre les formes *indica* et *japonica*.

	associations multialléliques observées chez <u>O.sativa</u>	associations multialléliques non rencontrées chez <u>O.sativa</u>	associations en ségrégation	
	PHE+/CAT-A1/PGI-A1 PHE-/CAT-A1/PGI-A2 PHE-/CAT-A2/PGI-A2	PHE+/CAT-A1/PGI-A2 PHE+/CAT-A2/PGI-A1 PHE+/CAT-A2/PGI-A2 PHE-/CAT-A1/PGI-A1 PHE-/CAT-A2/PGI-A1	---	
effectifs observés	9	3	34	
effectifs attendus	4,8	8,1	33,1	$\chi^2 = 6,95^*$

TABLEAU 38 : les différentes associations rencontrées dans la descendance S (G3) d'une plante CAT- A1A2; PGI-A1A2; EST-E0E0; PGI-B1B1; PHE+- comparaison des effectifs observés et attendus dans chaque type de combinaison

C - Evolution des structures génétiques à travers les marqueurs morphologiques

1. La réaction au phénol comme critère discriminant

1.1. nouvelle approche du déterminisme de la réaction au phénol

L'ajustement des ségrégations observées à une situation monogénique impose de supposer une très forte pression de sélection contre la réaction positive. Cependant des pertes importantes d'électromorphes *O. longistaminata* en G2 ont été mises en évidence et il n'est pas incohérent d'envisager le même phénomène concernant la réaction au phénol.

En supposant une situation triallélique où seuls les allèles *O. longistaminata* sont contre sélectionnés (situation proche de celle observée pour les marqueurs enzymatiques), au niveau de la production gamétique mâle uniquement, il faut supposer une élimination totale des gamètes portant l'allèle sauvage pour approcher les fréquences observées de plantes PHE- (on passe alors de 25% à 37,5%, ce qui est encore inférieur à la plupart des fréquences observées). Si la sélection agit au niveau des gamètes mâles et femelles de façon identique, la fréquence de l'allèle *O. longistaminata* doit passer de 25% théoriquement à 9% pour atteindre une proportion de 7/16 de plantes PHE- en G2. Cette réduction apparaît très élevée et plus importante que celle rencontrée pour tous les marqueurs enzymatiques.

Enfin, si on suppose une contre sélection agissant sur les allèles PHE+, quelle que soit leur origine, les taux de sélection deviennent réalistes, mais demeurent élevés (la fréquence de l'allèle dominant passe de 50% à 34%).

L'hypothèse d'un déterminisme monogénique peut donc être envisagée, sous réserve de l'intervention de facteurs sélectifs du même type que ceux rencontrés pour les marqueurs enzymatiques.

Toutefois, en G3, si les distorsions de ségrégation s'atténuent au niveau des marqueurs électrophorétiques, on observe toujours des ségrégations correspondant à une situation digénique pour la réaction au phénol. Par la suite, l'organisation de la variabilité des groupes PHE+ et PHE- sera discutée suivant chacune de ces deux hypothèses.

	LOPA		RAP		RAS		DENS		COPA	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
PHE + (n=339)	24,61	5,20	11,55	3,24	28,01	16,92	2,34	1,12	0,472	0,102
PHE - (n=219)	25,59	4,59	12,79	3,58	31,01	16,29	2,40	1,00	0,504	0,113
s ² (+)/s ² (-)	1,283		0,819		1,079		1,254		0,815	
ANOVA	CM		CM		CM		CM		CM	
FAM	124,1	***	10,48	NS	755,4	**	3,4	***	0,014	NS
PHE	143	*	219,2	***	1584	*	0,865	NS	0,125	**
FAM x PHE	1143	***	247	***	1907	***	11,17	***	0,349	***
Résiduelle	22,33		11,6		269,5		1,11		0,012	

	HAUT.		EPI		SP4		NGR	
	m	s	m	s	m	s	m	s
PHE + (n=339)	76,12	15,91	113	13,75	23,83	14,98	33,49	60,3
PHE - (n=219)	81,03	15,41	110,1	13,07	20,96	12,83	60,77	120,4
s ² (+)/s ² (-)	1,066		1,106		1,363*			
ANOVA	CM		CM		CM		CM	
FAM	500,9	*	8,54	*	383,2	NS		
PHE	3578	***	22,78	*	1031	*		
FAM x PHE	10562	***	138,8	***	845,3	***		
Résiduelle	245,2		3,54		199,6			

TABLEAU 39 : moyennes et écart-types en G2. (SSD) des groupes définis par la réaction au phénol; analyses de variances sur les facteurs famille et phénol; rapport des variances intra-groupes

1.2. comparaison des groupes définis sur la base de la réaction au phénol en G2

Le TABLEAU 39 présente, suivant la réaction au phénol, les moyennes des variables quantitatives, et les résultats de l'analyse de variance réalisée sur les facteurs FAMILLE (8 ddl, la famille H7 n'étant pas prise en compte) et REACTION AU PHENOL (1 ddl), en G2. Des différences significatives de moyenne suivant la réaction au phénol sont mises en évidence pour la plupart des variables morphologiques (exceptée pour la densité paniculaire). On observe également une interaction entre les deux facteurs, significative pour tous les caractères, traduisant des différences de comportement suivant les familles.

Au niveau des caractères qualitatifs, les distributions sont différentes pour l'aristation et le format du drapeau (FIGURE 37) : on observe une inversion des distributions pour l'aristation et la largeur des feuilles paniculaires suivant la réaction au phénol.

Les plantes PHE- présentent, en moyenne, des panicules plus longues, plus ramifiées et plus compactes. Elles sont plus hautes, elles ont des drapeaux longs et larges et elles sont plus précoces que les plantes PHE+, mais elles présentent un tallage moins abondant. Cette association de caractères traduit d'une part une vigueur plus importante chez ces plantes (au niveau des caractéristiques de croissance), mais aussi un retour vers le phénotype *japonica* parental plus marqué. La faible proportion de plantes aristées traduit l'importance de la perte en allèles sauvages, plus prononcée que chez les individus PHE+.

Si certains de ces caractères sont corrélés entre eux (notamment au niveau de la structure paniculaire et de la hauteur), un certain nombre sont indépendants (voir chapitre II). Il semble donc exister un système assurant la cohésion des différents gènes responsables de ces caractères, qui, bien que répartis dans tout le génome, fonctionnent comme s'ils étaient liés à la réaction au phénol, et favorisent le retour vers le phénotype *japonica*. Il est par ailleurs intéressant de remarquer que la densité paniculaire, pour laquelle on n'observe pas de différence suivant la réaction au phénol, intervient habituellement dans la discrimination des types variétaux.

Cette cohésion se retrouve au niveau de la pigmentation : si les distributions de la pigmentation (COLO) ne diffèrent pas pour la population totale, on observe suivant les variétés parentales des comportements différents : dans les familles dont le parent *japonica* n'était pas anthocyané, les plantes PHE- apparaissent moins pigmentées, au contraire des familles dont le parent présentait au moins un marqueur de pigmentation.

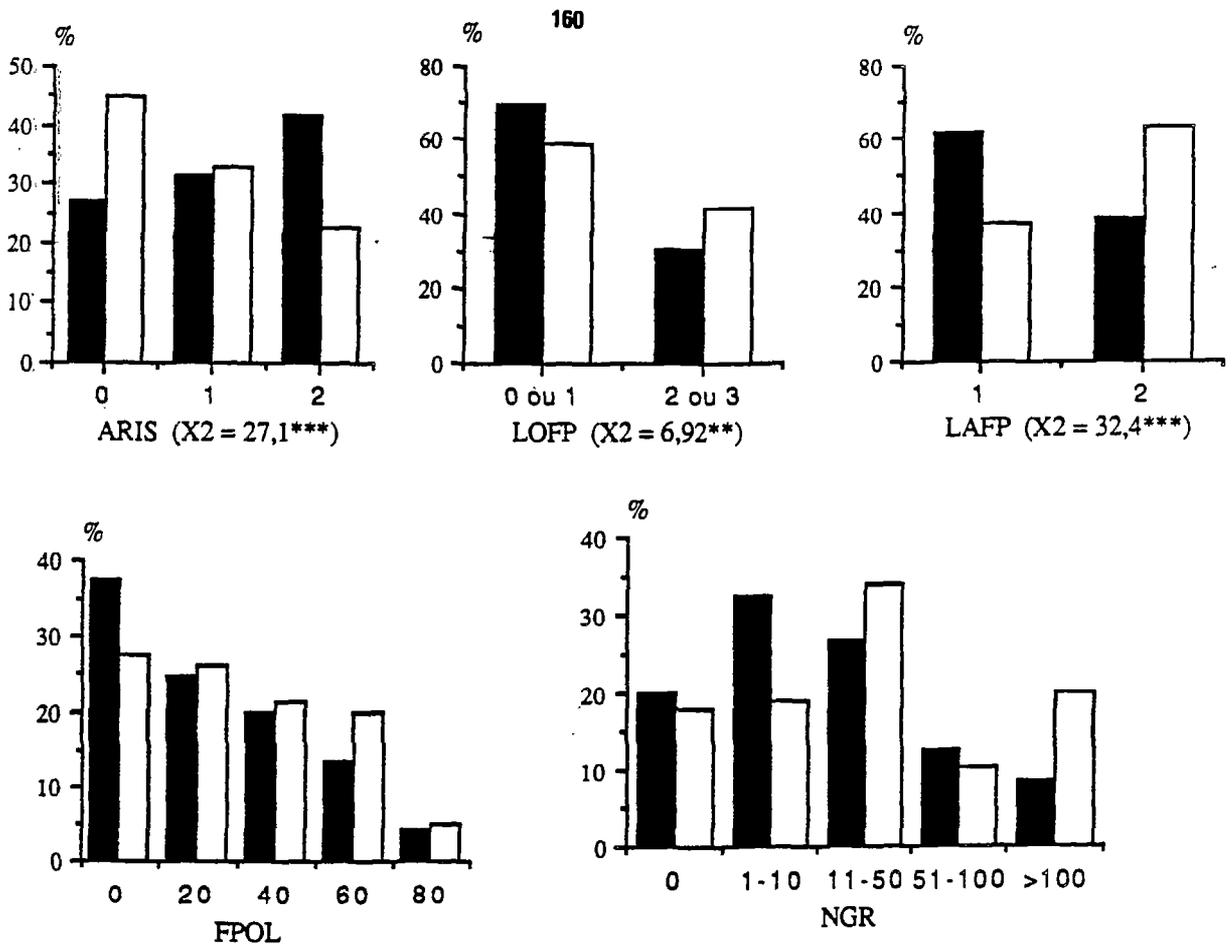


FIGURE 37 : comparaison des distributions de quelques caractères qualitatifs

et de la fertilité suivant la réaction au phénol des plantes en G2:

aristation (ARIS), longueur (LOFP) et largeur (LAFP) des feuilles paniculaires
fertilité pollinique (FPOL) et production de graines (NGR)

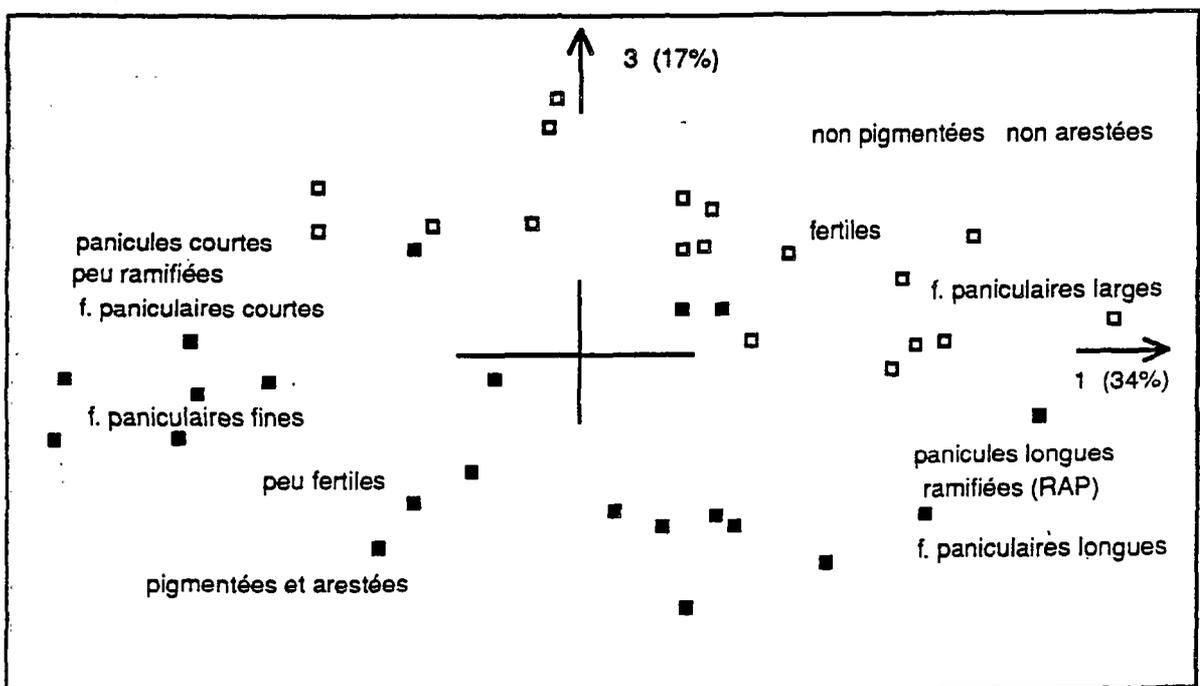
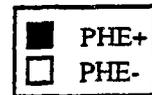


FIGURE 38 : plan 1-3 d'une A.F.C. réalisée sur 39 descendants G2 de la famille 8

■ [PHE +] □ [PHE -]

Si la réaction au phénol est gouvernée par un gène dominant, le phénotype PHE- sera obtenu uniquement à partir du génotype homozygote récessif, tandis que le phénotype PHE+ se rencontrera dans les structures homozygotes ou hétérozygotes, correspondant à des environnements génétiques plus divers; on s'attend alors à une variance plus faible du groupe PHE-. En revanche, si deux gènes sont impliqués, chaque phénotype peut faire intervenir chacun des allèles (voir A.2.2), et les groupes PHE- et PHE+, porteurs d'une diversité génétique voisine, devraient avoir des variances intra-groupe homogènes. Les différences morphologiques, mises en évidence au niveau des moyennes de chaque groupe, ne s'accompagnent pas d'une réduction de variabilité : la comparaison des variances ne montre une différence qu'au niveau de la production de panicules (TABLEAU 39), celle-ci provenant de la liaison entre la moyenne de ce caractère et sa variance.

Enfin, ces différences morphologiques s'accompagnent d'une amélioration de la fertilité chez les plantes PHE-, que ce soit au niveau de la fertilité pollinique ou de la production de graines (FIGURE 37).

La FIGURE 38 représente le plan (1,3) d'une Analyse Factorielle des Correspondances réalisée sur 39 individus G2 de la famille 8, à partir de caractères morphologiques et de la fertilité. Bien que la réaction au phénol n'intervienne pas dans la définition des axes, on observe une séparation nette entre les plantes PHE+ et PHE- au niveau de l'axe 3.

1.3. analyses discriminantes au sein de chaque famille

Nous avons vu qu'une interaction significative entre les facteurs FAMILLE et PHENOL était mise en évidence en G2. Les Analyses Factorielles Discriminantes réalisées sur la base de ce caractère, pour chaque famille, confirment ce résultat. Le TABLEAU 40 montre le classement, pour chaque famille, des six premières variables discriminantes.

La première variable discriminante conduit à des taux élevés d'individus correctement classés (de 60 à plus de 70%), mais le caractère défini à ce titre varie suivant les familles (seule la largeur de la feuille paniculaire intervient deux fois). Chacune des variables intervient au moins une fois dans la discrimination. On observe cependant une faible participation des caractéristiques paniculaires, celles-ci prenant par ailleurs des sens variables suivant les familles (les fortes valeurs caractérisant tantôt les PHE-, tantôt les PHE+) tandis que la hauteur, le tallage, la production de graines, l'aristation et la largeur du drapeau interviennent de nombreuses fois, toujours dans le même sens. Ces variables, se retrouvent, avec la précocité, au niveau de l'analyse sur la population totale, qui permet de classer correctement 68% des individus.

Les mêmes associations discriminant les deux groupes se retrouvent en Bulk.

	H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H8	H9	TOTAL	
EXE			-6	-5							
LOPA					1		-6	5			
RAP							3				
RAS	2	-3	-3					-3	-4		
DENS		4		-4		2					
COPA		1					-5				
HAUT	6	5	5	6	4	5				5	
SP4	-5		-4		-6	-4	-4		-2	-4	
EPI					-5		-1		6	-6	
NGR	4			2		6		1	3	3	
ARIS	-3	-6	-1	-3	-2		-2			-2	
COLO					3	1		-2			
LOFP						-3		-6	1		
LAFP	1	2	2	1				4	5	1	
% de bien classés											
avec la 1 ^o variable	67,7	62,9	61,3	64,5	74,2	67,7	72,6	67,7	71	62,2	
avec les 6 variables	82,3	72,6	75,8	83,9	75,8	77,4	80,6	79	79	68,1	
affectation d'après les 6 variables											
groupe [PHE-]	[PHE-]	17	20	20	15	22	18	18	19	20	153
d'origine [PHE-]	[PHE+]	4	11	5	2	5	8	5	5	5	66
	[PHE-]	7	6	10	8	10	6	7	8	8	112
	[PHE+]	34	25	27	37	25	30	32	30	29	227

TABLEAU 40 : classement des 6 premières variables discriminant les groupes définis par la réaction au phénol, pour chaque famille et pour l'ensemble de la population G2
le signe " - " indique que les plus faibles valeurs de la variable correspondent au groupe [PHE-]

PAS	VAR	Bien classés %	[PHE-] (n=70) m (s)	[PHE+] (n=92) m (s)
1	H40	64,6	13,61 (4,10)	11,39 (2,97)
2	COPA	65,1	0,491 (0,098)	0,455 (0,085)
3	NGR	64,6	222,8 (221,1)	146,1 (127,1)
4	LAFP	64,6	1,675 (0,336)	1,537 (0,300)
5	ARIS	66,1	0,671 (0,675)	1,000 (0,809)
6	RAP	69,3	11,59 (2,32)	10,76 (2,40)

TABLEAU 41 : A.F.D. pas à pas sur les groupes définis par la réaction au phénol, pour l'ensemble des descendance G3 en ségrégation (B, C, G, N, R, S)

Les plantes PHE- des 6 descendances G3 ségrégeant pour la réaction au phénol montrent une croissance plus rapide et plus intense : la hauteur à 40 jours (H40) intervient dans la discrimination des groupes (TABLEAU 41), mais on observe aussi des valeurs plus élevées pour la valeur de la hauteur à 60 jours et à maturité et pour la longueur et la largeur du drapeau; leurs panicules apparaissent plus compactes et plus ramifiées, moins aristées et plus fertiles (au niveau de la production de graines, de la fertilité pollinique et de la fertilité femelle, mesurée en autofécondation et en fécondation libre).

Ces analyses ont permis de mettre en évidence un certain nombre de caractères discriminant les groupes PHE+ et PHE-. Cependant, certains de ces caractères interviennent dans la distinction sauvage-cultivé (cas, par exemple, de l'aristation et de la pigmentation), tandis que d'autres sont plus spécifiques de la distinction *indica - japonica* (largeur du drapeau, tallage,...). Afin de juger plus précisément l'importance des recombinaisons intergénomiques, il semble donc important d'individualiser ces deux axes de discrimination.

2. Jugement des recombinaisons de caractères morphologiques

2.1. les associations de caractères en G2

En G2, les associations de caractères sont étudiées sur un échantillon de 294 plantes (90 PHE- et 204 PHE+). La formule correspondant à la distinction *indica-japonica* (IJm2) est établie à partir de la date d'épiaison, du tallage, de la largeur du drapeau et de celle des grains, tandis que la distinction sauvage-cultivé (SCm2) fait intervenir la compacité paniculaire, l'aristation, la pigmentation et la note de pérennité du second nœud.

Les deux formules IJm2 et SCm2, faisant intervenir des variables indépendantes entre elles, apparaissent globalement indépendantes ($r = 0,08$). On observe cependant une différence de répartition des individus sur les axes *indica - japonica* (IJm2) et sauvage-cultivé (SCm2), suivant leur réaction au phénol; cette différence, mise en évidence au niveau des moyennes de chaque groupe (TABLEAU 42) se retrouve au niveau de la projection des individus sur le plan déterminé par les 2 variables (FIGURES 39a et 39b). Au sein du groupe PHE-, les plantes situées du côté "*japonica*" sur l'axe IJm2 sont plutôt situées dans les valeurs positives de l'axe SCm2. Cette association cultivé-*japonica* ne se retrouve pas chez les plantes PHE+.

Cette observation concorde avec les résultats des analyses caractère par caractère. Par ailleurs, le groupe PHE- présente une plus faible variance pour la variable SCm2.

	échantillon total (n=252)				échantillon PHE - (n=92)		échantillon PHE + (n=160)	
	m	s	min	max	m	s	m	s
LJm2	0	0,52	-1,279	1,379	0,165	0,47	-0,096	0,52
SCm2	0	0,56	-1,06	0,9	0,157	0,482	-0,089	0,585

TABEAU 42 : valeurs moyennes, écart-types et extrêmes des formules discriminantes en G2 pour la population totale et suivant la réaction au phénol

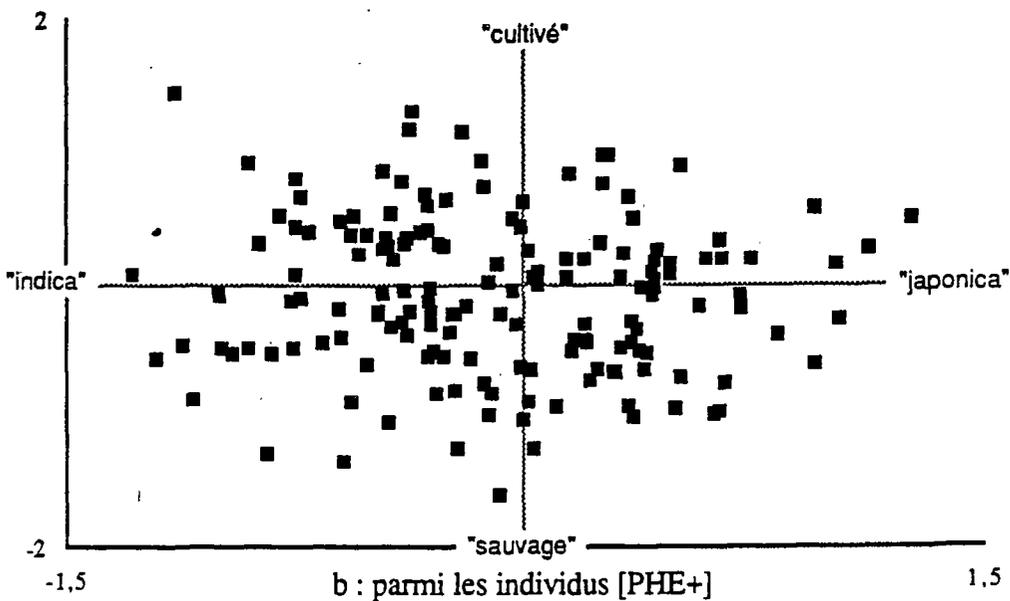
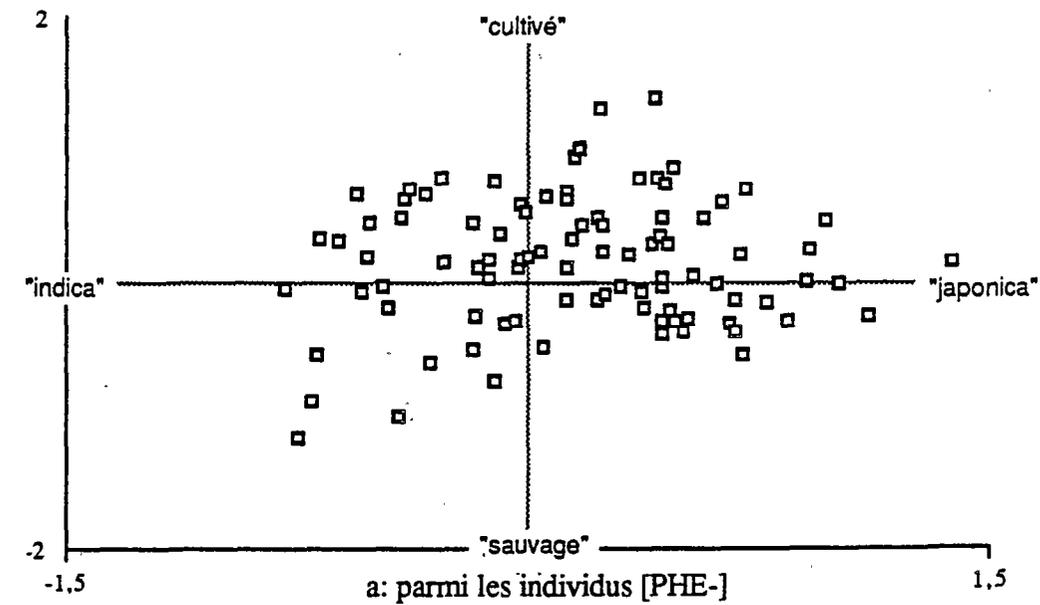


FIGURE 39 : projection des individus G2 sur le plan défini par les variables LJm2 et SCm2

Par la suite les deux formules sont transformées en variables qualitatives comprenant 8 classes d'amplitude égales (en regroupant les individus extrêmes). La distribution de la variable I_{m2} pour les plantes PHE+ présente alors une allure bimodale, les deux classes de valeurs proches de 0 étant en défaut par rapport aux valeurs extrêmes (FIGURE 40).

Ce défaut de types intermédiaires traduit l'existence d'associations préférentielles de caractères, malgré l'indépendance en G2 des variables qui définissent la formule, et peut être interprété comme une limitation des recombinaisons.

On n'observe pas de relation entre la valeur de I_{m2} ou de SC_{m2} et la fertilité (exprimée par le nombre de graines produites par plante et par la fertilité pollinique).

2.2. les associations de caractères en G3

En G3, les associations de caractères sont étudiées sur les 20 descendances (540 individus) à partir des formules :

- I_{m3} définie par le tallage, la précocité et la largeur des feuilles;
- SC_{m3} définie par la compacité paniculaire, le nombre d'insertion d'épillets et le regroupement de la floraison, exprimé par le rapport des panicules émises en 2 semaines sur le nombre de panicules émises en 4 semaines (PP24);
- SC_{q3} , défini comme une somme de caractéristiques sauvages (égrenage, aristation, exsertion des stigmates, pigmentation, ouverture et port des panicules).

Pour ces trois variables, les valeurs positives correspondent aux types *japonica* ou cultivé.

Les moyennes et les valeurs extrêmes sont présentées dans le TABLEAU 43. La distribution de I_{m3} , plus étendue qu'en G2 montre un excès de plantes aux valeurs négatives élevées et, corrélativement un défaut de types "*indica*" intermédiaires (FIGURE 41).

La distribution de SC_{q3} ne couvre pas l'étendue théorique de variation (de 0 à 12) et présente un excès de type cultivé.

On observe une relation entre les valeurs moyennes des descendances pour I_{m3} et SC_{q3} (FIGURE 42). Au niveau individuel, ces deux variables sont faiblement corrélées ($r=0,25$). SC_{m3} est indépendante de ces deux formules.

La fertilité des individus apparaît liée aux formules, les valeurs positives étant associées à une production de graines plus élevée (FIGURE 43) : les coefficients de corrélation avec I_{m3} , SC_{m3} et SC_{q3} sont respectivement 0,21, 0,36 et 0,16. Au niveau de la fertilité pollinique, on observe les plus faibles valeurs pour les classes intermédiaires de I_{m3} , tandis que pour la formule SC_{q3} , la fertilité pollinique suit la progression de la production de graines.

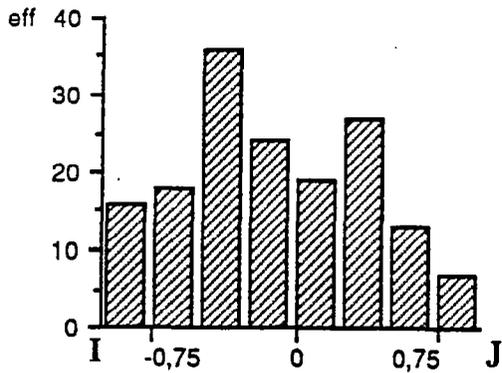


FIGURE 40 : distribution de LjM2 parmi les plantes PHE+

échantillon total G3 (n=540)				
	m	s	min	max
LjM3	0	0,632	-2,53	1,41
SCm3	0	0,61	-1,489	3,157
SCq3	8,506	1,66	1	10

TABLEAU 43 : valeurs moyennes, écart-types et extrêmes des formules discriminantes pour la population totale G3

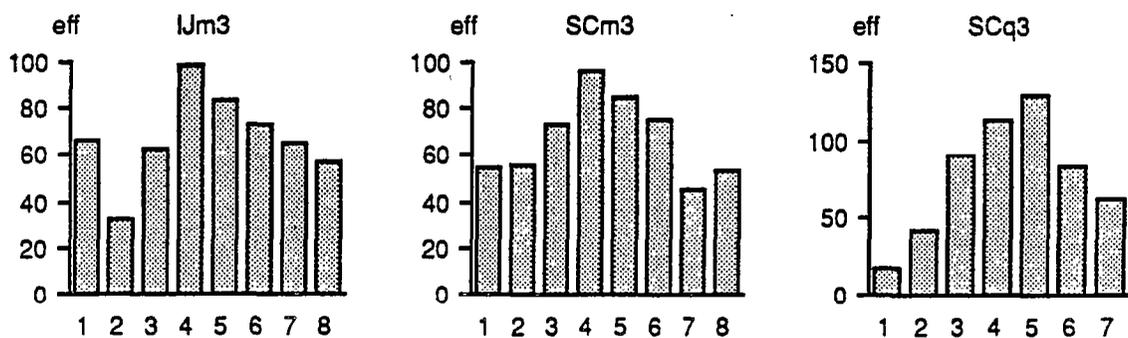


FIGURE 41 : distributions des formules discriminantes en G3

Au niveau des valeurs moyennes des lignées, outre une descendance très fertile dont le score IIm_3 est négatif, on observe des fertilités polliniques plus élevées dans les scores positifs. Cette association ne se retrouve pas au niveau de la formule SCm_3 .

Il apparaît donc, à cette génération une liaison entre le type de plantes et la fertilité, les plantes, ou les lignées, les plus "*japonica*" étant en moyenne plus fertiles. De même, la perte des caractères sauvages semble liée à la restauration de la fertilité.

Par ailleurs, la tendance à la bimodalité des distributions de IIm en G_2 et G_3 traduit un défaut de certaines structures morphologiques, qui peuvent provenir de l'action de facteurs limitant les recombinaisons intergénomiques.

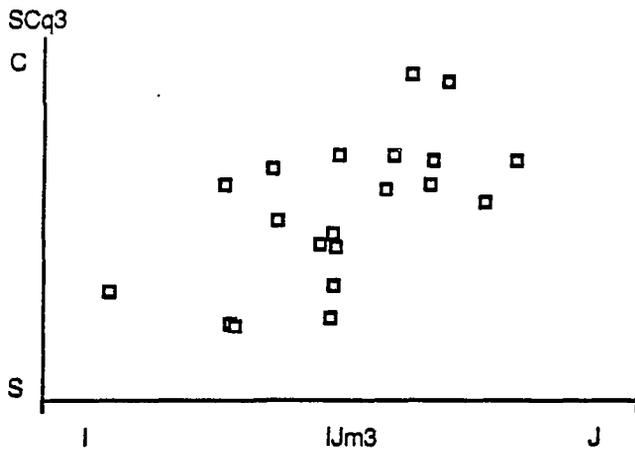


FIGURE 42 : relation entre les valeurs moyennes de Lm3 et SCq3 des descendance G3

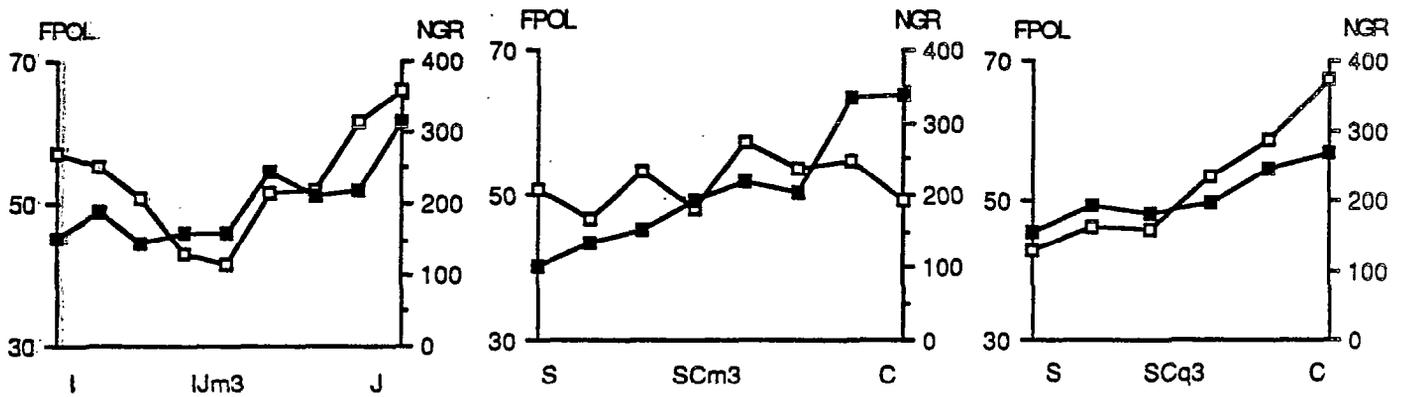


FIGURE 43 : relation entre les formules discriminantes en G3 et la fertilité

- FPOL
- NGR

D - Concordance entre les approches basées sur le polymorphisme enzymatique et morphologique

1. Influence des génotypes enzymatiques sur les caractères morphologiques et la fertilité

Des différences de moyenne pour des caractères morphologiques, suivant le génotype enzymatique des plantes, peuvent être interprétées comme des liaisons entre les gènes codant pour les isozymes et des marqueurs impliqués dans les caractères quantitatifs (QTL : "Quantitative Traits Loci", au sens de TANKSLEY *et al.*, 1982). De telles liaisons ont été recherchées en G1 et en G2, au niveau des isozymes dans un premier temps, puis au niveau des associations multialléliques.

1.1. résultats de l'analyse en G1

En G1, les 84 individus analysés sont regroupés suivant leurs génotypes enzymatiques. Les comparaisons des moyennes pour les caractères morphologiques mettent en évidence quelques différences.

Le locus EST-B apparaît impliqué dans plusieurs caractères paniculaires : longueur et nombre de ramifications. Il est intéressant de remarquer que les valeurs les plus élevées de ces variables correspondent au génotype possédant l'allèle *O. longistaminata* (TABLEAU 44). Ce génotype correspond également à une production de panicules plus faible.

On observe également des liaisons peu significatives entre le génotype au locus SDH-A et le tallage, entre PGI-A et la précocité. L'effet du génotype au locus LAP-E sur la production de graines est intéressant et doit être rapproché des pertes importantes observées à ce locus en G2.

Enfin, le locus EST-E apparaît fortement lié à un des gènes responsables de la pigmentation, les plantes portant l'allèle EST-E0 étant toutes anthocyanées, sauf une. Cette liaison peut s'interpréter par la proximité du locus C (groupe de linkage I, chez *O. sativa*, FIGURE 36), producteur de chromogène, dont l'action doit être complétée par celle d'un activateur qui transforme le chromogène en pigment anthocyané (TAKAHASHI, 1982).

EST-B		LOPA		RAP		RAS		SP4	
génom.	eff.	m	t	m	t	m	t	m	t
B1B5	34	29,84	***	11,29	***	29,63	*	36	**
B1B1	50	25,3		9,31		25,42		51	

SDH-A		SP4		PGI-A		EPI	
génom.	eff.	m	t	génom.	eff.	m	t
A1A3	44	38,95	*	A10A2	39	111	*
A2A3	40	50,14		A1A2	45	107	

LAP-E		NGR		EST-E		COLO		
génom.	eff.	m	t	génom.	eff.	0	1	X2
E5E1	42	7,79	*	E0E1	39	1	38	***
E1E1	42	32,21		E2E1	45	20	25	

TABEAU 44 : différences morphologiques mises en évidence entre les génotypes enzymatiques à la génération G1
moyennes de chaque génotype (m)
niveau de signification (test t pour les caractères quantitatifs, X2 pour les qualitatifs)

EST-B		LOPA		RAP		SP4		ARIS			
génotype effectif		m	F	m	F	m	F	0	1	2	X2
B1B1	159	24,3	16,3	11,4	11,2	28,9	11,8	56	36	67	8,79
B1B5	117	27,1	***	12,9	***	22	***	37	52	46	**
B5B5	18	28,6		14,1		15,4					

EST-E		COPA		EPI		LOFP			COLO				
génotype effectif		m	F	m	F	0 ou 1	2 ou 3	X2	0	1	2	3	X2
E0E0	69	0,47		105,4		53	16		13	17	18	21	
E1E?	104	0,45	4,08	110,9	12,3	61	43	11,31	37	15	17	35	47,7
E2E?	65	0,5	**	109,1	***	32	33	**	39	6	10	10	***
E1E2	56	0,49		120,3		32	24		37	0	6	13	

CAT-A		RAS		DENS		SP4	
génotype effectif		m	F	m	F	m	F
A2A2	27	36,7	5,57	2,81	4,88	19,8	3,88
A1A2	91	34,5	**	2,75	**	23,4	*
A1A1	176	28,5		2,37		27,2	

TABEAU 45 : différences morphologiques mises en évidence entre les génotypes enzymatiques à la génération G2
moyennes de chaque génotype (m)
niveau de signification (F pour les caractères quantitatifs, X2 pour les qualitatifs)

1.2. relation entre les isozymes et les caractères morphologiques en G2

Les résultats des tests de liaison, au niveau familial et au niveau de l'ensemble de la population G2, sont présentés en ANNEXE XVIIa. Les effectifs des classes intervenant dans les analyses de variance sur la population totale étant déséquilibrés, les différences faiblement significatives ne seront pas prises en compte.

Sur l'ensemble des individus, on observe des différences de comportement morphologique suivant les génotypes aux trois loci enzymatiques EST-B, EST-E et CAT-A.

Le locus EST-B apparaît lié à un QTL de la longueur des panicules et du nombre de ramifications primaires. Comme en G1, les valeurs les plus élevées de ces variables sont induites par la présence de l'électromorphe sauvage (TABLEAU 45). Ce génotype correspond également à une production plus faible de panicules.

Le génotype au locus EST-E semble impliqué au niveau de la compacité paniculaire, de la précocité et de la longueur des feuilles paniculaires : les génotypes faisant intervenir l'allèle EST-E2 correspondent aux plantes les plus compactes, tandis que le génotype EST-E1E2 s'oppose au génotype EST-E0E0 pour la précocité et la longueur du drapeau (TABLEAU 45).

Le locus CAT-A apparaît impliqué dans les différentes variables paniculaires, notamment le nombre de ramifications secondaires, le génotype CAT-A1A1 correspondant aux valeurs les plus faibles (TABLEAU 45). Pour les loci CAT-A et EST-B, les génotypes hétérozygotes présentent des valeurs intermédiaires entre les deux structures homozygotes.

Les loci impliqués dans les caractères quantitatifs peuvent avoir des effets variables (positifs ou négatifs) et ne s'exprimer que dans certains contextes génétiques. Des différences n'apparaîtront significatives au niveau de la population que lorsque les effets seront équivalents pour la majorité des familles. Ainsi, certaines liaisons sont confirmées pour de nombreuses familles : c'est le cas notamment des liaisons concernant le locus EST-B et la structure paniculaire.

Les liaisons hautement significatives sur la population mais non significatives au niveau familial traduisent plus la limite de la méthode de détection au niveau familial qu'une absence réelle de liaison, et peuvent être dues à l'accumulation de différences non significatives pour chaque famille. Enfin, certaines liaisons n'apparaissent que pour une ou deux familles : ce phénomène peut provenir de structures alléliques particulières à ces familles dont l'action est camouflée dans la population totale.

SCe1		LOPA	
G1	effectif	m	F
S	13	30,1	
	23	27,7	3,23
	32	25,9	*
C	16	26,3	

IJe1 (PGI)		LOPA		RAP		EPI	
G2	effectif	m	F	m	F	m	F
I2	14	22,22		9,14		131,5	
I1	33	25,7	3,02	11,6	3,92	120,2	5,24
J1	28	25,73	*	12,46	**	114,2	**
J2	18	26,25		11,94		115,8	

IJe2 (SDH)		EPI	
G2	effectif	m	F
I2	45	120,6	
I1	91	110,5	8,44
J1	95	108,9	***
J2	63	108,1	

TABLEAU 46 : différences morphologiques mises en évidence entre les groupes définis sur la base des associations multialléliques en G1 et G2

En ce qui concerne les caractères qualitatifs, la relation entre EST-B et l'aristation est singulière dans la mesure où le génotype EST-B1B1 montre une proportion de plantes fortement aristées plus importante que les génotypes présentant l'électromorphe sauvage.

Le locus EST-E apparaît de nouveau lié à la pigmentation pour 6 des 9 familles étudiées.

1.3. relation entre les isozymes et la fertilité en G2

Les génotypes enzymatiques ont peu d'influence sur la fertilité en G2. Pour la production de graines, on note certains effets typiquement familiaux, mais au niveau global, les moyennes ne diffèrent pas. Pour la fertilité pollinique, seule une liaison faiblement significative avec EST-E est mise en évidence. Contrairement à ce que l'on était tenté de penser en comparant les distorsions en SSD et en Bulk, il semble que l'on ne puisse attribuer les pertes de certains allèles à des différences de fertilité suivant les génotypes.

2. Relation entre les associations multialléliques et les différentes variables

Les résultats des tests de liaison entre les valeurs des formules IJe et SCe (après regroupement des classes extrêmes), les caractères morphologiques et la fertilité en G1 et G2 sont récapitulés en ANNEXE XVIIb.

2.1. influence de SCe1 sur les caractères morphologiques en G1

En G1, on observe des différences de longueur des panicules suivant la valeur de SCe, les scores élevés en électromorphes sauvages correspondant aux panicules les plus longues (TABLEAU 46). Ce résultat provient de l'influence du locus EST-B, car le test sur SCe2 (qui ne fait pas intervenir ce locus) ne met en évidence aucune différence.

2.2. influence des formules IJe et SCe sur les caractères morphologiques en G2

L'axe IJe1 (faisant intervenir les loci CAT-A, EST-E et PGI-A) apparaît lié à la longueur paniculaire, au nombre de ramifications primaires et à la précocité, les types les plus "*japonica*" paraissant plus précoces et ayant des panicules plus longues et plus ramifiées (TABLEAU 46). On retrouve ici l'influence du génotype au locus EST-E sur la précocité, les autres liaisons provenant de l'action cumulée des différents QTL liés aux marqueurs enzymatiques. Il est intéressant de noter que les plantes aux scores correspondant aux structures enzymatiques "*japonica*" montrent également des structures phénotypiques "*japonica*". Pour la formule IJe2 (où PGI-A est remplacée par SDH-A), on ne retrouve de différence significative qu'au niveau de la précocité.

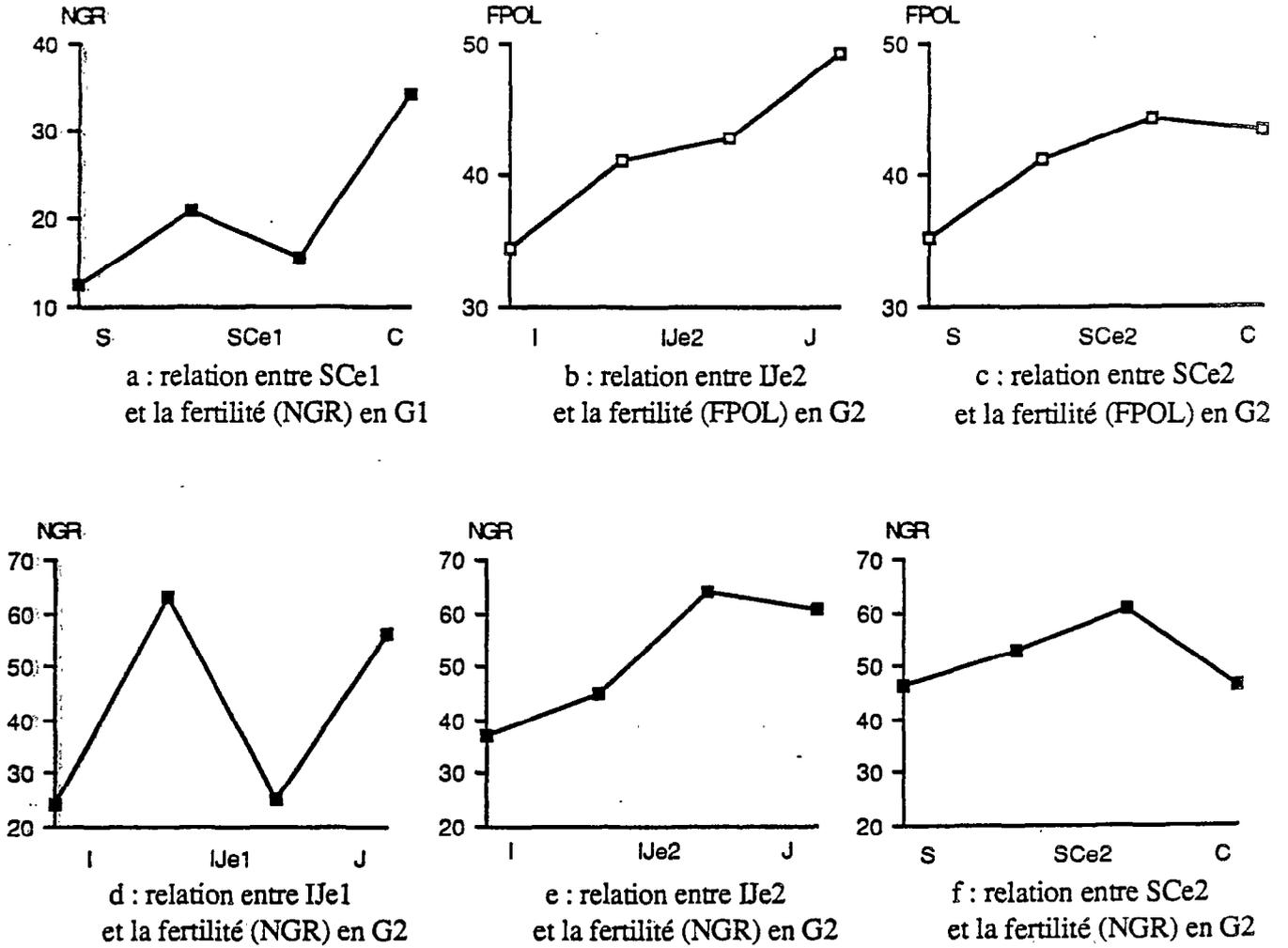


FIGURE 44 : relations entre les associations multialléliques et la fertilité

2.3. relation entre les formules IJe et SCe et la fertilité

La FIGURE 44 présente les relations entre les scores des associations multialléliques et la fertilité moyenne de chaque classe. En G1, l'analyse de variance ne met pas en évidence de différence; on observe cependant chez les plantes présentant le moins d'électromorphes sauvages une fertilité en graines améliorée (FIGURE 44a).

En G2, on observe également une tendance à ce qu'une plus faible fertilité pollinique soit associée aux combinaisons "*indica*" et "sauvage". Cette relation ne se retrouve pour la production de graines qu'au niveau de la formule IJe2. Les combinaisons de plusieurs loci enzymatiques révèlent donc, comme les combinaisons de caractères morphologiques, des associations qui n'étaient pas détectées au niveau des marqueurs individuels.

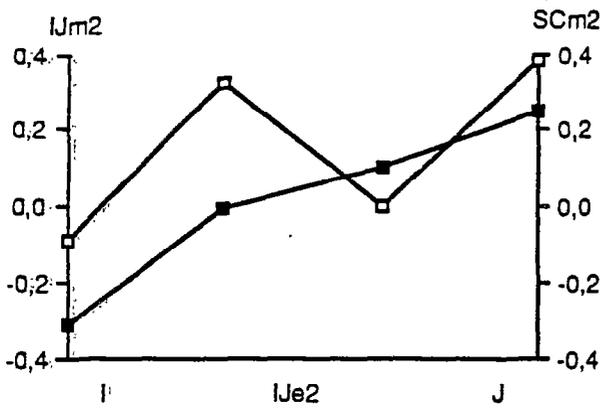
3. Concordance entre les formules discriminantes enzymatiques et morphologiques

La cohérence des formules discriminantes basées sur le polymorphisme électrophorétique et morphologique est étudiée sur un échantillon de 103 plantes G2.

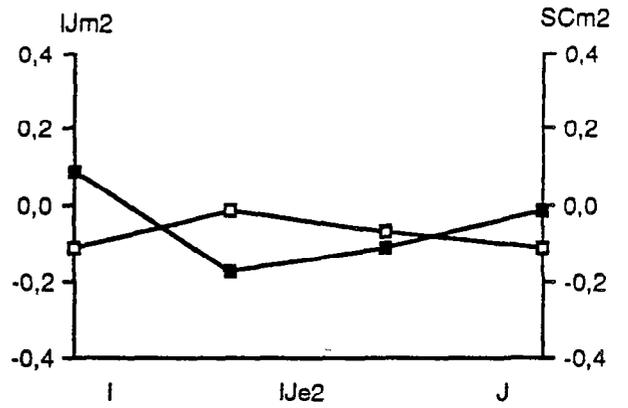
Sur l'ensemble de la population, il n'apparaît pas de relation nette entre IJe2 et IJm2, ni entre SCe2 et SCm2. Cependant, des résultats différents sont observés suivant la réaction au phénol des plantes. Les plantes PHE- présentent une concordance des valeurs extrêmes des indices IJe2 et IJm2, mais la relation n'est pas régulière (FIGURE 45). Par ailleurs, une liaison apparaît entre les scores liés à la discrimination électrophorétique *indica-japonica* (IJe2) et la formule SCm2.

On n'observe pas chez les plantes PHE+ d'association entre IJe2 et les deux formules basées sur les associations de caractères morphologiques. En revanche, le score en électromorphes *O. longistaminata* (SCe2) apparaît lié aux structures morphologiques IJm2, chez ces plantes et non chez les plantes PHE-; les scores élevés en allèles sauvages apparaissent associés aux types "*indica*".

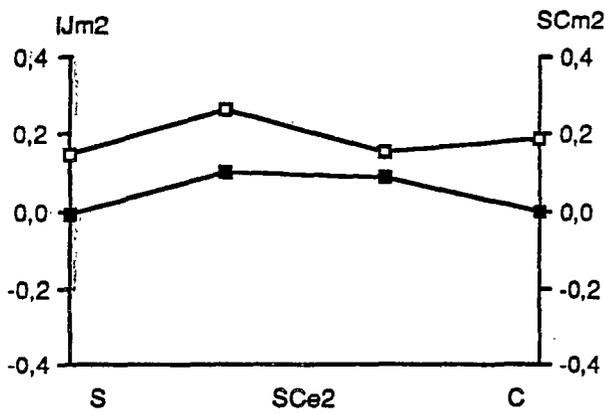
Si la confrontation des approches enzymatiques et morphologiques ne montre pas une concordance nette, elle révèle néanmoins certaines relations entre les différents indices, opposant toujours les associations *indica*-sauvage aux associations *japonica*-cultivé.



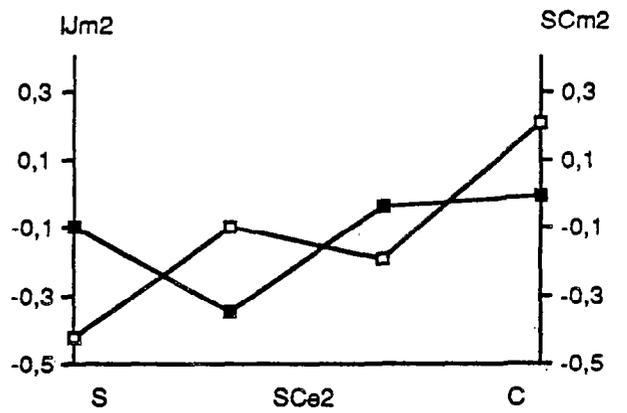
a : relation entre IJe2, IJm2, et SCm2 dans le groupe [PHE-]



b : relation entre IJe2, IJm2, et SCm2 dans le groupe [PHE+]



c : relation entre S, SCe2, IJm2, et SCm2 dans le groupe [PHE-]



d : relation entre S, SCe2, IJm2 et SCm2 dans le groupe [PHE+]

FIGURE 45 : concordance entre les formules discriminantes enzymatiques et morphologiques en G2, suivant la réaction au phénol des individus

□ IJm2
■ SCm2

CONCLUSION

L'étude des recombinaisons entre les trois génomes confrontés ici nécessite le suivi de marqueurs fiables et discriminants. Si les marqueurs isozymiques ont des structures alléliques permettant une bonne distinction (le marquage des trois génomes est assuré pour deux loci, trois autres permettant la séparation sauvage-cultivé), la réaction au phénol, avec un déterminisme simple, est également caractéristique de la séparation des types *indica* et *japonica*. La méconnaissance des parents d'UL16.6 nous a conduits à étudier des témoins issus de la même prospection afin d'évaluer les caractères morphologiques discriminant les types parentaux. Une étude bibliographique a permis de compléter la liste de ces marqueurs, et de n'en conserver qu'un petit nombre, fortement discriminants et indépendants les uns des autres. L'étude de combinaisons de marqueurs, électrophorétiques ou morphologiques, renseigne sur les associations préférentielles et, par conséquent sur les recombinaisons. La valeur diagnostique des variables retenues et des formules discriminantes sera envisagée dans la discussion.

Le jugement des recombinaisons entre génomes d'espèces différentes est généralement réalisé sur des générations avancées. SANO *et al.* (1980), par exemple, ont étudié les limitations à la recombinaison chez des hybrides entre *O. glaberrima* et *O. sativa* en comparant des plantes back cross F1 et F6. Nos résultats sont donc préliminaires et nombre d'entre eux nécessitent d'être approfondis en poursuivant l'étude sur plusieurs générations. Certains phénomènes apparaissent toutefois nettement dès la G2 ou la G3.

L'évolution spontanée vers un phénotype cultivé, observée en G2, se retrouve au niveau de l'évolution des marqueurs enzymatiques (a priori neutres). Le suivi des fréquences alléliques de 9 marqueurs enzymatiques (localisés sur 7 groupes de linkage distincts) montre une perte en électromorphes sauvages qui, peu significative en G1, s'accroît en G2 pour quatre marqueurs. Ces distorsions concernent toutes les familles et apparaissent indépendantes d'un locus à l'autre. A partir de la G3, ces distorsions ne sont plus systématiques que pour le locus LAP-E.

Des distorsions, en faveur du génotype cultivé ont fréquemment été observées dans des back cross interspécifiques (STEPHENS, 1949; GRANT, 1967; RICK, 1969; TANKSLEY *et al.*, 1980, 1982). GHESQUIERE (1988) a cependant observé un excès d'allèles du génome récurrent quel qu'il soit : les back cross *Obake* x *O. longistaminata* présentent un excès d'allèles sauvages. Les causes probables de ces distorsions et leur conséquences seront approfondies dans la discussion générale. On observe également une perte importante de l'allèle dominant de la réaction au phénol (responsable du phénotype des variétés *indica* et de l'espèce sauvage).

Si la fertilité n'apparaît pas liée aux génotypes enzymatiques lorsque les marqueurs sont étudiés individuellement, les formules discriminantes, définies par le score en allèles sauvages à plusieurs loci, montrent une meilleure fertilité, en G1 et en G2, associée au type cultivé. D'autre part, les formules discriminant les structures sauvage et cultivé, basées sur des associations de caractères morphologiques, ne sont liées à la fertilité qu'en G3, les types les plus cultivés étant également les plus fertiles.

En G2, on ne met pas en évidence de distorsions au niveau des fréquences alléliques entre les gènes *indica* et *japonica*. Les descendances en autofécondation G3 fournissent l'occasion d'étudier certaines combinaisons *indica* x *japonica* : les distorsions n'apparaissent pas systématiques et il est possible d'obtenir des combinaisons alléliques, sur plusieurs loci, rarement observées chez les variétés cultivées.

Ces résultats, favorables à une bonne recombinaison entre les deux sous-espèces d'*O. sativa*, contrairement aux observations faites sur des descendances directes *indica* x *japonica* (PHAM, 1984; PHAM *et al.*, en préparation) militent en faveur du rôle du génome d'*O. longistaminata* comme pivot entre ces deux types. Les observations morphologiques viennent toutefois atténuer ce résultat.

En effet, dès la G2, une association est mise en évidence entre la réaction au phénol des individus et différents caractères morphologiques, les plantes à réaction négative présentant un retour plus marqué vers le type *japonica*. Cette liaison se retrouve nettement au niveau des associations de caractères. Par ailleurs, les plantes les plus "*japonica*" en G3 (avec des feuilles paniculaires larges, un tallage faible mais précoce) présentent une fertilité améliorée. On observe également en G2, une liaison entre les scores en allèles ancestraux *japonica* et la fertilité.

La confrontation des formules discriminantes sauvage-cultivé et *indica* - *japonica* montre par ailleurs une association entre types cultivé et *japonica* (ou sauvage et *indica*). Cette cohésion apparente entre la réaction au phénol et, d'une part différents caractères morphologiques indépendants, d'autre part la fertilité, traduit l'existence de restrictions de recombinaison qui, partiellement masquées en G2, apparaissent plus nettement en G3. Ces résultats laissent présager une divergence des types morphologiques dans les générations ultérieures.

L'origine de ces restrictions de recombinaison, ainsi que leurs conséquences pour l'utilisation des formes introgressées en création variétale, sera abordée dans la discussion générale, en s'attachant à déterminer le rôle du génome d'*O. longistaminata* comme pivot entre les formes *indica* et *japonica*.

**DISCUSSION ET
CONCLUSION GENERALE**

Le suivi d'une population à large base génétique, introgressée par *O. longistaminata*, a permis de mettre en évidence l'importance de la diversité morphologique et de l'allopollinisation au sein des deux premiers essais. L'objectif de réaliser des opérations de brassage naturel a donc bien été atteint. On a tenté, dans la troisième partie, de juger l'impact de ces intercroisements sur les recombinaisons intergénomiques. Un grand nombre des résultats présentés demeurent cependant préliminaires et nécessitent, pour leur confirmation, la poursuite d'expériences précises.

Après avoir discuté le problème méthodologique du marquage des génomes et du suivi des recombinaisons dans des croisements complexes, nous aborderons dans la discussion trois thèmes, en présentant pour chacun les études qu'il paraît important de mener :

- le principe d'un génome pivot destiné à améliorer les recombinaisons inter-subspécifiques sera discuté, en cherchant à mettre en évidence l'influence des différents paramètres responsables du brassage sur les recombinaisons. Le rôle antagoniste de la stérilité, qui favorise les intercroisements, mais est une source importante de distorsions sera souligné. L'étude des barrières reproductives des formes introgressées apparaît importante et sera envisagée;
- l'exploitation en création variétale des formes introgressées développées dans cette expérience dépendra d'une part de l'importance des recombinaisons entre les génomes sauvage et cultivé, d'autre part des possibilités de s'affranchir des perturbations induites par ce type d'hybridation, et enfin des possibilités de restaurer un phénotype cultivé;
- enfin plusieurs méthodes de sélection seront envisagées afin d'exploiter ce matériel en vue de la création de variétés de riz pluvial. Les avantages et les limites des différentes méthodes seront discutées.

A - Le marquage des génomes et le suivi des recombinaisons

La population que nous avons créée, avec une structure génomique complexe (sa diversité initiale provenant non seulement des trois génomes, mais aussi des dix variétés parentales *japonica*) ne permet pas un marquage simple des génomes. Les deux types de marqueurs utilisés dans cette étude, caractères morphologiques et isozymiques, possèdent des valeurs diagnostiques différentes.

Les caractères morpho-physiologiques qualitatifs, à déterminisme oligogénique, ont été largement utilisés pour étudier les différents facteurs limitant les recombinaisons et analyser le déterminisme de la stérilité chez les hybrides inter-subspécifiques (OKA, 1953, 1957a; NAKAGAHRA, 1972). On peut rappeler l'importance de la réaction des glumelles au phénol dans la distinction *indica* - *japonica*. Ces marqueurs sont cependant peu nombreux, et la majorité des caractères simples, tels que les marqueurs de pigmentation ou d'aristation, sont sous la dépendance de plusieurs gènes.

Les caractères quantitatifs, à déterminisme génétique complexe, marquent une part plus importante du génome, mais sont fortement influencés par le milieu. L'influence des facteurs environnementaux limite l'information apportée par ces caractères : l'étude de l'évolution des corrélations, à travers des coefficients de concordance, a été envisagée dans différentes études des recombinaisons intergénomiques chez le riz (dans des croisements *O. sativa* x *O. glaberrima* par SANO *et al.*, 1980 et dans des combinaisons *indica* x *japonica*, par OKA, 1983). Cependant, les simulations de IKEHASHI (1977) montrent que ce critère est fortement soumis aux conditions du milieu, et possède une faible valeur de jugement des recombinaisons.

Les isozymes permettent un marquage direct du génome, par des loci aux fonctions identiques. Avec neuf marqueurs, dispersés sur sept chromosomes, on ne peut toutefois prétendre "couvrir" la totalité du génome : selon TANKSLEY (1983), il faudrait au moins un marqueur tous les 20 cM, soit environ 80 loci pour couvrir l'ensemble du génome du riz de façon satisfaisante. Un tel résultat ne peut être obtenu par électrophorèse unidimensionnelle où, au maximum, une quarantaine de loci peuvent être révélés. Le marquage plus complet du génome demande donc d'autres techniques, telles que l'électrophorèse bidimensionnelle, qui permet une approche du comportement des gènes de régulation (DAMERVAL *et al.*, 1987), ou l'analyse des longueurs des fragments de restriction de l'ADN (RFLP). Chez le riz, on dispose déjà de plus d'une centaine de marqueurs révélés par RFLP (Mc COUCH *et al.*, 1988). Cette technique, plus coûteuse que l'électrophorèse unidimensionnelle, permet un marquage global du génome et donne accès à un nombre de sites mutationnels élevé (BURR *et al.*, 1983; TANKSLEY *et al.*, 1989).

L'étude des recombinaisons intergénomiques repose sur le suivi de marqueurs permettant la distinction des différents génomes. La définition de formules discriminantes, telles que les valeurs extrêmes correspondent aux formes parentales, basées sur des caractères morphologiques ou électrophorétiques posent différents problèmes.

L'ignorance des géniteurs d'UL16.6 impose le choix *a priori* des caractères discriminants. Par ailleurs, les conditions de culture strictement aquatiques d'*O. longistaminata*, ainsi que sa forte plasticité, ne permettent pas de comparer, dans les mêmes conditions, les deux espèces impliquées dans l'hybridation. Nous nous basons donc sur des résultats recueillis dans différentes conditions.

Il apparaît enfin difficile, pour certains caractères discriminants, de séparer l'apport du génome de l'espèce sauvage de celui du type *indica* chez les hybrides : la réaction positive au phénol est commune aux deux génomes, mais également, pour de nombreux caractères, les formes *indica* apparaissent plus proches d'*O. longistaminata* que les formes *japonica* tropicales, qui, elles, sont bien individualisées : ainsi, on distingue les variétés *indica* et *japonica* par l'importance du tallage ou la précocité, mais *O. longistaminata* est, comme les formes *indica*, très photosensible et sa pérennité, introgressée chez *O. sativa*, peut être en partie responsable du tallage élevé des hybrides. De même, les variétés *indica* sont plus égrenantes que les variétés *japonica*. Les taux d'égrenage n'atteignent cependant pas chez ces variétés ceux rencontrés chez l'espèce sauvage. On peut donc surtout définir les spécificités des formes *japonica* par rapport aux deux autres génomes, les différences entre ceux-ci étant moins marquées, pour certains des caractères étudiés dans cette expérience. La liaison entre les formules IJm et SCm s'explique donc en partie par cette plus forte proximité des types *indica* et *O. longistaminata*. En l'absence de meilleurs marqueurs, ces formules restent cependant valables.

Afin de distinguer les différents génomes ainsi que la part de la diversité dont ils sont responsables, les descendances de différents croisements devraient être comparées : la comparaison de descendants du croisement *indica* x *japonica* à ceux du croisement trois voies ((*O. longistaminata* x *indica*) x *japonica*) apporterait peu d'informations en raison des fortes perturbations induites par *O. longistaminata*. La comparaison de descendants du croisement trois voies aux descendants ((*O. longistaminata* x *indica*) x *indica*) ou ((*O. longistaminata* x *japonica*) x *japonica*) serait plus appropriée pour individualiser l'apport réel de chaque génome.

Les marqueurs électrophorétiques permettent, pour certains d'entre eux, une meilleure distinction des génomes, et notamment de la distinction sauvage-cultivé, assurée pour cinq loci. L'étude des associations alléliques discriminant les formules ancestrales *indica* et *japonica* renseigne également sur les limitations à la recombinaison. Certaines associations pouvant provenir

de combinaisons génomiques mixtes, les formules doivent être interprétées par rapport aux combinaisons ancestrales et non par rapport aux génotypes parentaux.

La recherche d'une cohérence entre les approches enzymatique et morphologique conduit fréquemment à des résultats contradictoires (voir DAMERVAL et de VIENNE, 1985, pour synthèse). Le rôle adaptatif de segments chromosomiques marqués par des loci isozymiques a pu être mis en évidence chez le riz par MORISHIMA (1985), à partir de l'étude de descendants de croisements entre *O. sativa* et *O. perennis*, reconduits en Bulk de la F2 à la F7. Le suivi des fréquences alléliques a révélé, par exemple, une liaison entre le locus Pox-1 et différents caractères (hauteur, précocité et longueur des anthères), impliqués dans la discrimination annuel - pérenne.

La confrontation des données enzymatiques et morphologiques, en G2, a également fait apparaître certaines liaisons, notamment entre le locus EST-B et la longueur des panicules, ou entre EST-E et la précocité. Il serait intéressant d'approfondir ces résultats, obtenus sur un matériel complexe, en ségrégation. Pour cela, la fixation de lignées isogéniques, hétérozygotes au locus considéré est nécessaire. Une fois le niveau de fixation jugé suffisant, la liaison peut être de nouveau testée, entre des plantes différant uniquement par le segment chromosomique portant ce locus (en F6 environ 10% du segment chromosomique initial est retenu, d'après MORISHIMA, 1985).

La détermination des Q.T.L. permet d'augmenter l'efficacité de la sélection (TANKSLEY *et al.*, 1982). L'étude de back cross interspécifiques, correspondant à des situations de déséquilibre de linkage maximal, facilitent la mise en évidence de ce type de liaison : on peut citer l'expérience de TANKSLEY *et al.* (1981) qui révèle, dans un back cross entre la tomate cultivée *Lycopersicon esculentum* et *Solanum pennellii* une liaison entre la proportion d'allèles du parent récurrent et la ressemblance à ce même parent. CHU et OKA (1970b) ont observé également, dans un essaim d'hybrides entre *O. sativa* et *O. perennis* une relation entre le score basé sur neuf caractères morphologiques et celui basé sur les génotypes à trois loci isozymiques.

L'absence de liaison nette entre les formules discriminantes basées sur les deux types de marqueurs (IJe et IJm, ou SCe et SCm), en G2, peut traduire une absence réelle de liaison, mais peut aussi provenir du faible nombre de marqueurs intervenant dans chaque formule, de l'hétérogénéité des structures génomiques testées ou de l'action des différentes perturbations observées durant le cycle des plantes.

La poursuite de cette analyse à partir de lignées G3, et sur du matériel reconduit en autofécondation, permettrait un meilleur contrôle des conditions d'expérience, et serait intéressante pour étudier la signification biologique des différences de structures alléliques entre les génomes.

B - Comment le brassage naturel influence-t-il les recombinaisons entre génomes *indica* et *japonica* ?

L'autofécondation réduit à chaque génération de moitié la part de génome hétérozygote. Dans ces conditions, les recombinaisons efficaces entre deux génomes sont limitées aux toutes premières générations consécutives au croisement. L'existence, chez *O. sativa*, de différents systèmes génétiques contre sélectionnant certaines associations recombinaisons, vient réduire encore la probabilité des recombinaisons efficaces. C'est pour cette raison que nous avons choisi d'utiliser les caractères d'allogamie d'*O. longistaminata* pour favoriser au maximum les intercroisements entre plantes. On a effectivement mis en évidence l'importance de l'allogamie, notamment en G1. Il est cependant apparu que ce taux dépendait de la fertilité des plantes, l'autofertilité se restaurant parallèlement à la fertilité des plantes. Si les plantes les plus stériles sont les plus intercroisées, la stérilité risque d'être la source de distorsions de ségrégation, et par conséquent de limiter les recombinaisons. Nous avons donc tenté d'analyser les causes et les conséquences de la stérilité sur les recombinaisons, pour déterminer l'apport du génome d'*O. longistaminata* comme pivot entre les types *indica* et *japonica*.

1. Les paramètres du brassage génétique

1.1. les paramètres biologiques influençant le brassage

Nous avons montré l'influence de la longueur des stigmates, en liaison avec leur exertion, sur le taux d'intercroisement. Cette relation est également retrouvée chez *O. sativa* : chez cette espèce le taux d'allopollinisation naturel varie de 0,1 à 4% (CHANDRARATNA, 1964), mais est accru chez les lignées mâles stériles où il atteint de 19 à 32%. XU et SHEN (1988) et PARMAR *et al.* (1979) ont montré que ce taux dépendait essentiellement de la proportion de stigmates exertés. Il serait intéressant d'étudier si la longueur des stigmates est associée à l'accroissement de leur durée de réceptivité, ou s'il ne s'agit que d'un phénomène dû à leur meilleure exertion.

Chez l'autre espèce allogame du groupe *Sativa*, *O. rufipogon*, l'allogamie est partielle (t varie de 50 à 60% dans les populations naturelles les plus allogames), le taux d'exertion des stigmates est élevé (90%), mais les stigmates sont plus courts que chez *O. longistaminata* (OKA et MORISHIMA, 1967; BARBIER, 1987). L'utilisation de cette espèce comme pivot entre les sous espèces d'*O. sativa* est également envisageable mais on obtiendrait un taux d'intercroisement moins important, notamment du fait de la faible stérilité des hybrides entre *O. sativa* et *O. rufipogon*.

Nous avons mis en évidence la possibilité de développer un système de brassage naturel, dans une population largement stérile. Il ne peut toutefois être poursuivi dans une optique de restauration de la fertilité, et l'introgression du caractère longs stigmates d'*O. longistaminata* chez *O. sativa* ne semble se justifier que parallèlement à l'utilisation d'un système de stérilité mâle, comme l'a envisagé TAILLEBOIS (1983).

1.2. les origines probables de la stérilité

L'hybridation avec *O. longistaminata* est à l'origine de nombreuses perturbations, dont la plus importante est la stérilité. La fertilité des hybrides au cours des deux premiers essais est très faible, mais on observe une grande diversité de comportements suivant les plantes. Il semble improbable que seuls les mécanismes génétiques responsables de la stérilité des hybrides *indica* x *japonica* interviennent pour rendre compte de ce phénomène. L'origine de cette stérilité demeure inconnue et il nous est uniquement permis de faire quelques hypothèses et de proposer différentes expériences qui permettraient de déterminer l'influence de chaque paramètre.

On peut supposer que la stérilité provient de certaines combinaisons alléliques, du même type que celles responsables de la stérilité dans les croisements *indica* x *japonica*, ou bien d'incohérences dans le fonctionnement génétique, dues à la confrontation d'associations alléliques très différentes. Dans ce dernier cas, l'élimination des combinaisons non viables explique la restauration progressive de la fertilité.

On ne dispose pas de preuve de différences chromosomiques suffisantes pour expliquer la stérilité. CHU et OKA (1970b) et BOUHARMONT (1982) ont considéré que les défauts observés à la méiose ne permettaient pas d'expliquer les taux de stérilité des hybrides interspécifiques. On ne peut toutefois rejeter l'hypothèse de l'existence d'inversions ou de translocations impliquant des segments chromosomiques trop courts pour empêcher la formation de bivalents, mais pouvant provoquer la létalité des cellules haploïdes (mécanisme "d'hybridité structurale cryptique", défini par STEBBINS, 1950). L'analyse du génome du riz, par les méthodes de la biologie moléculaire, permettra de révéler l'existence de tels phénomènes que la cytologie classique ne peut mettre en évidence. Mc COUCH *et al.* (1988), en étudiant le polymorphisme des longueurs des fragments de restriction de l'ADN du riz, sur des F2 d'un croisement *indica* x *japonica*, ont signalé l'existence de différences entre les génomes des deux sous-espèces, notamment d'allèles nuls chez le parent *japonica* et de différences de localisation de certains marqueurs identiques, révélant des traces de transposition. L'impact de ces différences sur la fertilité des hybrides reste à déterminer. Toutefois, il serait intéressant d'étudier par cette méthode la divergence du génome d'*O. longistaminata* par rapport à celui d'*O. sativa*.

Cette technique est également requise pour confirmer l'existence des phénomènes de transposition induits par l'hybridation interspécifique, suggérée par GHESQUIERE (1988). Si de telles transpositions ont lieu, elles peuvent expliquer la stérilité des hybrides F1 et des plantes *Obake* (équivalentes à des hybrides F1), et, si les segments chromosomiques modifiés ne sont pas totalement éliminés, les remaniements peuvent entraîner la stérilité dans les générations suivantes. On pourra dans ce cas fixer des allèles modifiés, qui ne seront à l'origine de la stérilité qu'en hybridation avec une structure non modifiée. Il semble donc que la stérilité observée dans les premières générations, due principalement à l'introgession de gènes d'*O. longistaminata*, corresponde à une série de phénomènes complexes.

Il sera alors important d'estimer la compatibilité en croisement des formes introgressées, dont la fertilité est restaurée, obtenues au cours du troisième essai. En effet, si des remaniements ont pu être fixés à l'état homozygote, on obtiendra des plantes stériles en croisement avec les deux sous-espèces d'*O. sativa*. Il doit être également possible de retrouver des génotypes parentaux compatibles avec une seule des sous-espèces. Enfin, si *O. longistaminata* possède, au niveau des gènes responsables de la stérilité des croisements inter-subspécifiques, une structure allélique semblable à celle des variétés à large compatibilité hybride, on pourra trouver des génotypes ponts, fertiles en croisement avec les deux sous-espèces. Ce type de génotype s'avèrerait très intéressant, étant donnée la rareté avec laquelle ils sont rencontrés chez *O. sativa* (IKEHASHI et ARAKI, 1987).

La même recherche de compatibilité s'avèrerait intéressante avec l'espèce africaine de riz cultivé *O. glaberrima*. En effet, cette espèce est séparée d'*O. longistaminata* par la même barrière reproductive qu'*O. sativa*, et elle est séparée d'*O. sativa* par un système génétique provoquant la stérilité des hybrides, par interaction sporo-gamétophytique. On ne connaît pas la structure allélique de ces gènes chez *O. longistaminata* : le test de plantes fertiles issues de G3, en croisement avec *O. glaberrima* nous renseignerait sur l'existence éventuelle de formes compatibles, qui pourraient également jouer le rôle de ponts interspécifiques, ou uniquement être utilisées à la base d'un programme d'hybridation multiple.

2. Les recombinaisons entre génomes *indica* et *japonica*

2.1. les distorsions de ségrégation

Le suivi de populations d'hybrides *indica* x *japonica*, reconduites sans sélection, a révélé une augmentation de la fréquence des plantes présentant des combinaisons parentales de gènes indépendants (OKA, 1953), cette tendance étant plus ou moins associée à la stérilité (OKA, 1957a). Ce phénomène a par la suite été observé par de nombreux auteurs (NAKAGAHARA *et al.*, 1972, 1974; CLEMENT et POISSON, 1982) pour des marqueurs morphologiques ou isozymiques (PAI *et al.*, 1975; SECOND et MORISHIMA, 1981; GLASZMANN, 1982; PHAM *et al.*, en préparation). Différentes interprétations ont été proposées pour expliquer ces phénomènes: IKEHASHI et ARAKI (1987), dans une revue des résultats concernant les variétés à large compatibilité hybride, discutent les modèles précédemment proposés et mentionnent l'action de plusieurs gènes, dont l'action varie, en liaison ou non avec la fertilité.

Quel que soit le phénomène responsable de la stérilité, celle-ci provoquera la perte des allèles liés aux gènes ou aux secteurs chromosomiques qui la déterminent. Ainsi, l'élimination de secteurs chromosomiques remaniés a provoqué une perte en allèle *O. longistaminata*, tandis que l'existence de disfonctionnements alléliques conduit plutôt à éliminer les gamètes recombinés et devrait se traduire par un excès de formes parentales. La suppression des facteurs provoquant la stérilité doit mener, parallèlement à la restauration de la fertilité, à une réduction des pertes des marqueurs qui leur sont liés, du fait des recombinaisons entre gènes de stérilité et marqueurs.

On peut se demander quelles sont les conséquences de cette stérilité sur les différents mécanismes provoquant des distorsions de ségrégation dans les croisements *indica* x *japonica* ?

Les pertes alléliques, dans les croisements *indica* x *japonica*, concernent généralement les allèles d'origine *japonica* ; ce phénomène, habituellement révélé sur des marqueurs morphologiques (notamment par IKEHASHI et ARAKI, 1987) a été également rencontré au niveau des ségrégations des fragments de restriction de l'ADN (Mc COUCH *et al.*, 1988). Nous n'avons pas observé de perte significative d'allèle *O. sativa*, au cours des deux premières générations. L'essai G3 permet d'étudier des descendances variées : peu de distorsions ont été mises en évidence, et on n'observe pas de comportement favorisant systématiquement l'une des formes alléliques. Malgré d'éventuelles pertes en allèles *japonica* dans les combinaisons *indica* - *japonica*, on a pu, par le jeu du brassage, bénéficier d'un excès d'allèles *japonica* du fait des pertes en allèles *O. longistaminata* dans les combinaisons *O. longistaminata* - *japonica*. Dans ce cas, le brassage aura permis de reporter les pertes alléliques d'une ou deux générations, et l'absence de distorsion serait due à un phénomène de compensation en première génération.

Les deux premières générations ont fourni l'occasion, grâce aux intercroisements, de différentes recombinaisons, et devraient conduire à l'obtention de génotypes nouveaux pour les gènes responsables de la stérilité et des distorsions *indica - japonica*. Ces phénomènes pourront être étudiés précisément à partir de descendance en autofécondation de plantes G3, ségrégeant encore pour différents marqueurs, et notamment pour la réaction au phénol. Les pertes importantes de l'allèle PHE+ et l'association entre réaction au phénol négative et amélioration de la fertilité concordent avec les observations de IKEHASHI et ARAKI (1987), qui montrent une liaison entre les pertes en allèle PHE et la fertilité pollinique des plantes, une meilleure fertilité étant associée à l'allèle PHE-. Ils en déduisent une liaison entre le locus PHE et un gène responsable de la stérilité. Le même type de liaison (entre les loci PHE et ga.6) a été rapporté par SATO *et al.* (1987).

2.2. les associations de caractères morphologiques indépendants

Les associations de caractères morphologiques indépendants, observées à partir de la G2, et qui associent une réaction au phénol négative des plantes à un phénotype globalement plus *japonica* (avec des feuilles paniculaires plus larges, un tallage plus faible, mais plus précoce et des plantes plus hautes) et plus cultivé (moins aristé, moins pérenne et moins pigmenté) traduisent l'existence d'un système assurant la cohésion entre gènes indépendants, et par là même, de restrictions à la recombinaison. La diversité du groupe de plantes PHE- laisse toutefois la possibilité de rechercher, parmi ces plantes, des phénotypes recombinants. Par ailleurs, ces associations, dans une optique de création de variétés de riz pluvial, peuvent accélérer la restauration d'un phénotype cultivé intéressant.

Les liaisons, mises en évidence en G2, entre le génotype au locus EST-E et la précocité, ou entre CAT-A et le tallage, méritent d'être approfondies, puisque les deux loci sont impliqués dans la distinction *indica - japonica*, tout comme les deux caractères morphologiques; ces liaisons semblent donc traduire l'existence de différences adaptatives des segments chromosomiques. Chez *O. sativa*, la distinction des deux sous-espèces, révélée par différentes combinaisons de caractères morphologiques (MORISHIMA et OKA, 1981), a été également mise en évidence au niveau du polymorphisme électrophorétique (SECOND, 1982). Toutefois, il n'existe pas de preuves concernant la signification adaptative des différences de structure isozymiques (ENDO et MORISHIMA, 1983). L'origine des différences de structure allélique des deux groupes est donc recherchée, soit au niveau d'une double domestication (SECOND, 1982), soit au niveau de liaisons aux systèmes génétiques impliqués dans l'isolement entre les deux sous-espèces.

La poursuite de l'étude des recombinaisons entre caractères *indica* et *japonica* sur des descendance dont la fertilité est restaurée permettra d'évaluer plus précisément ces phénomènes.

C - Est-il possible et intéressant d'exploiter la diversité induite par hybridation interspécifique ?

I. Apport d'*O. longistaminata* pour la création variétale

Le recours, en amélioration des plantes, à l'hybridation interspécifique, est généralement envisagé en vue d'introduire des caractères à déterminisme génétique simple, inconnus chez l'espèce cultivée. Ce type de manipulation a notamment été réalisé avec succès pour l'obtention de résistances à des maladies, à des insectes ou d'autres parasites, pour l'acquisition d'adaptations spécifiques ou l'induction de stérilité mâle cytoplasmique (HARLAN, 1976; pour synthèse). Chez le riz, on peut citer l'introduction de la résistance au "grassy stunt virus", à partir d'*O. rufipogon*, ou de stérilité mâle cytoplasmique induite par l'hybridation entre cette même espèce et *O. sativa* (CHANG *et al.*, 1983). Ces introgressions sont généralement réalisées par rétrocroisements successifs sur l'espèce cultivée, afin d'éliminer rapidement la part du génome sauvage jugée inintéressante.

Bien que rarement envisagée, l'hybridation interspécifique s'est également révélée efficace pour l'amélioration de caractères quantitatifs. Chez *Avena*, FREY (1983) a montré que ce type de croisement pouvait apporter des améliorations pour des caractères peu prévisibles tels que le rendement. On peut également citer le cas d'amélioration quantitative par hybridation interspécifique chez le coton ou la tomate (HARLAN, 1976; HERMSEN, 1984).

Dans le cas du riz, les avis sont partagés : selon FREY (1983), "le pool du riz cultivé est suffisamment diversifié pour ne pas avoir à chercher de diversité parmi les espèces sauvages". Pourtant, dès 1978, FUJIMAKI a remarqué qu'une réduction de la diversité génétique se faisait sentir parmi les cultivars améliorés de riz. Par ailleurs, un programme d'hybridation interspécifique a été initié à l'Institut International de Recherche sur le Riz, afin d'estimer l'intérêt de l'espèce sauvage *O. rufipogon* en croisement avec *O. sativa*, du point de vue de caractères quantitatifs (KHUSH *et al.*, 1988).

Jusqu'à présent, l'utilisation d'*O. longistaminata* n'a été recherchée qu'en vue de l'introduction de quelques caractères oligogéniques : introgression du caractère longs stigmates (TAILLEBOIS, 1983) ou de gènes spécifiques de résistance à des maladies (KHUSH *et al.*, 1988, pour la résistance au flétrissement bactérien).

Nous avons mis en évidence l'importante variabilité phénotypique induite dès la première génération dans une structure génétique de type back cross interspécifique. Bien qu'une partie de cette diversité soit inexploitable en création variétale, son étendue est beaucoup plus élevée que celle observée dans les croisements intraspécifiques, où la majorité des hybrides F2 se situe entre les deux parents (PHAM, 1984; CLEMENT et POISSON, 1984a).

Par ailleurs, un certain nombre de transgressions peu prévisibles ont été observées. On peut, par exemple, citer l'apparition d'un troisième niveau de ramifications des panicules, chez certains individus G2, ou les transgressions observées chez les descendances G3, pour les structures paniculaires et les caractères de développement précoce (dont nous verrons les avantages pour la riziculture pluviale). Ces caractères ne proviennent pas forcément uniquement de la structure allélique de l'espèce sauvage et leur origine est probablement à rechercher au niveau de recombinaisons complexes.

L'étude de descendances précises, suivies en autofécondation, envisagée au chapitre précédent pour l'analyse des recombinaisons entre caractères *indica* et *japonica* permettra également de déterminer la part de variabilité fixable, de celle due aux interactions alléliques. On peut par exemple se demander si la vigueur végétative élevée observée en G1 ne provient pas, pour une part importante, d'effets d'hétérosis ? L'influence du cytoplasme *O. longistaminata* sur ces descendances devrait aussi être prise en compte.

L'intérêt d'*O. longistaminata* réside par ailleurs dans quelques-unes de ses spécificités (allogamie et pérennité) qui, si elles ne sont pas un objectif en soi, ont facilité la réalisation d'opérations naturelles d'intercroisement, dont les conséquences ont été doubles :

- reconduire la population, sans réduire de façon drastique la variabilité, malgré la forte stérilité des premières générations;
- permettre la confrontation simultanée de différents génomes (non seulement des génomes des deux espèces, mais aussi des structures génétiques des dix variétés *japonica* parentales), et, par conséquent, favoriser les recombinaisons intergénomiques.

De telles confrontations ont cependant le défaut d'être non contrôlées, et de rendre l'interprétation des observations beaucoup plus délicate qu'à l'issue d'hybridations contrôlées entre un nombre limité de géniteurs.

L'utilisation d'*O. longistaminata* a été envisagée en vue de la création d'un pool diversifié de plantes, sans objectif de sélection précoce, mais avec l'idée d'exploiter ce matériel pour la création variétale après avoir favorisé le brassage entre les familles. L'obtention de génotypes introgressés attractifs dépend de la qualité des recombinaisons entre les génomes des deux espèces confrontées,

mais leur exploitation nécessite de s'affranchir des perturbations observées dans les premières générations (au niveau du développement végétatif ou de la stérilité des plantes) et d'éliminer rapidement les caractères défavorables hérités d'*O. longistaminata*.

2. Les recombinaisons entre génomes sauvage et cultivé

La perte d'allèles d'*O. longistaminata* va limiter les recombinaisons intergénomiques. Les distorsions sont peu significatives au niveau de la production gamétique de la plante *Obake* (jugée en G1), où elles concernent surtout le locus LAP-E. En G2, elles sont plus généralisées (elles touchent 5 des 9 marqueurs étudiés), mais s'atténuent dès la troisième génération. Ces distorsions, indépendantes d'un locus à l'autre, vont réduire la probabilité de l'évènement "crossing over entre génomes différents", mais on n'observe pas d'association préférentielle de marqueurs qui traduirait l'élimination des combinaisons recombinées. Par ailleurs, on observe, pour certains marqueurs, une inversion du sens des distorsions en G3. Cette évolution est liée à la réduction de l'importance des facteurs sélectifs observés au cours des générations précédentes.

Il serait important de poursuivre l'étude de l'évolution de la population (laissée en fécondation libre) au niveau d'une troisième génération, reconduite en SSD à partir de la G2, afin d'étudier la liaison entre la réduction des pertes alléliques, l'évolution des structures phénotypiques et la restauration de la fertilité. Cette étude permettrait également d'estimer le devenir du taux d'intercroisement.

Des distorsions de ségrégation ont fréquemment été observées dans des descendance de back cross interspécifiques. En général, des causes multiples sont évoquées pour expliquer ce phénomène, en liaison ou non avec la stérilité des plantes. Chez la tomate, RICK (1963), puis VALLEJOS et TANKSLEY (1983) ont considéré les pertes alléliques comme la conséquence de plusieurs facteurs sélectifs agissant aux niveaux gamétique et sporophytique. Dans notre cas, on ne peut déterminer à quel stade du développement et quel phénomène intervient de façon prépondérante, puisque la détermination des fréquences alléliques est réalisée sur des plantes en fin de cycle. Les distorsions proviennent probablement de l'action des facteurs sélectifs observés, qui, s'ils ont des effets minimes, mais variant dans le même sens, s'additionneront pour provoquer les pertes observées. La dérive aléatoire due aux effectifs limités va accentuer ce phénomène.

La stérilité des plantes est probablement l'une des principales sources de déviation. En effet, nous avons vu que seul un petit nombre de plantes participait à la pollinisation : si la létalité des gamètes est liée au génotype enzymatique, d'importantes distorsions peuvent avoir lieu. Suivant que la sélection agit sur les gamètes mâles et femelles simultanément, ou sur les gamètes mâles uniquement, les distorsions apparaîtront dès la G1, ou seulement en G2.

GRANT (1967), pour illustrer sa théorie du "Morphology - Viability linkage" cite de nombreux cas de distorsions observées à la suite d'hybridations interspécifiques (chez *Mimulus*, *Potentilla*, *Gilia*), dont il recherche l'origine dans l'existence de liaisons entre gènes définissant les types morphologiques parentaux et des gènes responsables de la viabilité des plantes. Il explique alors la cohésion des caractères parentaux par une élimination des gamètes ou des plantes recombinés. Cette situation est analogue au modèle des gènes dupliqués, proposé par OKA (1953), pour expliquer la stérilité et les distorsions observées à l'issue de croisements *indica* x *japonica*. Ce modèle est difficilement applicable à notre étude, les pertes alléliques apparaissant totalement indépendantes d'un locus à l'autre.

Parmi les autres facteurs source de déviation des fréquences alléliques, on peut citer :

- L'élimination de génotypes au niveau sporophytique, du fait des faibles taux de germination, de la faiblesse, ou de plantes trop tardives qui ne participent pas à la génération suivante. La liaison entre le locus PGI-A et la précocité illustre ce phénomène : les individus portant l'allèle PGI-A10 (d'origine *O. longistaminata*) apparaissent en G1 plus tardifs que ceux portant l'allèle PGI-A1. Ce résultat peut être étendu à ce que OKA et CHANG (1959), puis OKA et MORISHIMA (1971) ont défini sous le terme de "cultivation pressure", pour expliquer l'évolution spontanée de descendants d'hybrides entre *O. sativa* et *O. rufipogon* vers un phénotype cultivé. Selon ces auteurs, le simple fait de cultiver (semer, repiquer et récolter) les hybrides constitue une pression de sélection suffisante pour expliquer cette évolution.
- L'existence d'interactions entre gamètes mâles et sporophytes femelles, provoquant la croissance différentielle des tubes polliniques ou des différences de germination du pollen. Ce type de facteur sélectif a notamment été rencontré chez le mil (JOLY et SARR, 1985) où il assure la cohésion des caractères de domestication. Etant donnée l'importance observée de la variabilité de la fertilité pollinique, il est évident que l'existence de tels phénomènes conduira rapidement à des distorsions alléliques, si les valeurs élevées de fertilité sont associées aux génotypes "cultivés", ce qui a été mis en évidence au niveau des formules discriminantes SCE;
- La liaison au gène D1, responsable de la barrière reproductive. S'il est sous la forme D1, il sera éliminé dès le premier back cross, entraînant simultanément les gènes qui lui sont liés, mais on ne pourra plus lui attribuer de pertes en G2. S'il est sous forme inactivée d*, comme le suggère GHESQUIERE (1988), il ne sera pas éliminé, mais une fertilité pollinique plus faible sera associée à ce secteur chromosomique modifié, ce qui se traduira également par une plus faible fréquence des allèles qui lui sont liés, ces distorsions pouvant se poursuivre en G2. Tout secteur modifié à la suite de l'hybridation interspécifique se comportera de la même manière.

Les pertes alléliques observées au niveau des fréquences isozymiques se retrouvent dans l'évolution des caractères morphologiques et se traduisent par une évolution spontanée vers un phénotype plus cultivé. La restauration de certaines corrélations entre caractères morphologiques, observée en G2, provient également de restrictions de recombinaisons. Toutefois, cette évolution apparaît favorable au développement de matériel sélectionnable.

3. Modalités d'exploitation de la diversité

La barrière reproductive entre *O. longistaminata* et *O. sativa* est surmontable sans avoir recours à des technologies compliquées. Elle requiert cependant un long travail d'hybridation, pour un taux de réussite faible. Les plantes *Obake* constituent, pour cette raison, des ponts interspécifiques naturels intéressants. Etant donnée la forte dépression en autofécondation des hybrides F1 interspécifiques (et des plantes *Obake*), il est nécessaire d'exploiter les formes introgressives par back cross. Le dosage en génome sauvage qui en résulte est probablement plus favorable à l'exploitation en sélection des descendants. Il n'est cependant pas nécessaire de poursuivre les rétrocroisements si l'on souhaite maintenir une diversité élevée afin de pouvoir sélectionner dans les générations ultérieures.

3.1. les perturbations induites par l'hybridation interspécifique

GHESQUIERE (1988) a suggéré que l'hybridation interspécifique, et particulièrement les croisements alternés, provoquait l'activation d'éléments mobiles. Dans ce cas, les secteurs chromosomiques touchés par les transpositions (notamment la zone portant le gène D1 de la barrière reproductive et celui du caractère rhizome) s'ils ne sont pas éliminés dès le premier back cross, risquent de provoquer des perturbations dans l'expression de caractères phénotypiques, et peuvent être responsables d'une certaine stérilité.

O. longistaminata est une espèce sauvage et allogame, en raison d'une autoincompatibilité stricte, et développe une forte pérennité. Elle peut donc supporter un fardeau génétique élevé. Certaines caractéristiques, telles que les anomalies florales observées (ne modifiant pas la viabilité des plantes) ou la faiblesse des hybrides peuvent lui être attribuées. Un gène létal récessif provenant d'*O. longistaminata*, ne s'exprimera qu'en G2, et avec un taux dépendant du taux d'autofécondation. Ce résultat explique d'une part la proportion plus importante de plantes faibles apparues en G2, mais peut aussi intervenir pour expliquer l'absence d'amélioration de la fertilité dans l'essai Bulk, où les plantes proviennent d'autofécondation avec une fréquence supérieure à celles observées en SSD. Si les plantes issues d'autofécondation sont contre sélectionnées, l'existence de ce fardeau génétique aura pour autre conséquence de maximiser le taux d'intercroisement.

Les deux espèces présentent des organisations génomiques similaires. Ce résultat est mis en évidence par la localisation des marqueurs enzymatiques, mais aussi par la relation entre la valeur des parents et la valeur moyenne des familles correspondantes : les perturbations vues précédemment, n'introduisent pas de biais dans l'héritabilité des caractères quantitatifs, où l'additivité demeure prépondérante. Cependant, même si l'organisation des génomes est identique, les phénomènes de régulation seront probablement différents, entre une espèce pérenne et allogame et une autre autogame et annuelle. Ces différences de fonctionnement morphologique et reproductif, provoquant des modifications profondes de l'environnement génétique, peuvent expliquer certaines observations, faites dès le premier essai, telles que le port prostré des plantes (apparu dans les mêmes proportions en G1 et G2), les faibles taux de germination ou le taux de plantes faibles observé en G1; elles peuvent également être à l'origine des modifications des corrélations entre caractères, mises en évidence en G1.

Il est apparu possible de s'affranchir rapidement de ces perturbations: en G3, à la suite d'une simple sélection sur la fertilité, la germination était normale, seules quatre descendances présentaient une proportion élevée de plantes faibles, aucune plante n'avait un port prostré et une seule lignée a développé des anomalies florales.

3.2. le syndrome de domestication

L'utilisation d'une espèce voisine sauvage en sélection impose de restaurer rapidement certaines caractéristiques spécifiques des espèces cultivées. Ces caractéristiques définissent le syndrome de domestication (HARLAN *et al.*, 1973) , commun à toutes les céréales, dont les principaux caractères sont l'absence de caducité des grains, l'homogénéité de la germination, la synchronisation de la maturité et la grosseur des grains (PERNES, 1986). Suivant l'existence de liaisons entre ces caractères, il sera plus ou moins facile de s'en affranchir chez les hybrides interspécifiques. Si, chez les céréales allogames, ces caractères sont généralement organisés en quelques linkats (cas du mil ou du maïs, cités par PERNES, 1983; 1986), chez les espèces autogames, ils sont fréquemment gouvernés par un nombre de gènes plus important, répartis dans tout le génome (comme chez *Setaria italica*, PERNES, 1986).

En première génération, les plantes étaient fortement marquées par ces caractères : les plantes fertiles étaient toutes égrenantes, la floraison était étalée dans le temps et la germination hétérogène. D'autres caractères tels que l'aristation, le port ouvert des panicules ou la pigmentation, s'ils n'interviennent pas directement dans la définition du syndrome de domestication, sont spécifiques de l'espèce sauvage, et leur élimination est nécessaire pour restaurer un phénotype exploitable en sélection. Les descendances en autofécondation G3 ont permis d'approcher l'hérédité de ces caractères et de révéler le contrôle multigénique de différents marqueurs (ARIS, EGRE, OUPA,

PPMA, PIG). Ces descendances ont également montré la possibilité d'obtenir des plantes fertiles et non égrenantes. Consécutivement à l'amélioration de la fertilité, la germination est apparue totalement restaurée, et la pérennité des plantes, déjà atténuée en G2, a régressé en G3. Ces résultats peuvent être comparés à ceux de OKA et MORISHIMA (1982) qui mentionnent la possibilité de restaurer un phénotype cultivé à partir d'hybrides entre *O. sativa* et *O. perennis*. Nos résultats ne montrent pas de liaison significative entre les trois caractères égrenage, dormance et aristation, tandis que MORISHIMA (1985) les trouve liés et observe une cohésion entre les caractères définissant les structures allogames-pérennes par opposition aux types autogames-annuels. Cette étude repose sur l'observation de générations avancées et il est possible qu'une telle association apparaisse si on poursuit l'étude des ségrégations, les pertes simultanées des différents caractères sauvages pouvant se traduire par l'apparition de liaisons entre ces caractères.

Ces différentes observations nous conduisent à trois remarques :

- les hybrides des deux premiers essais, fortement marqués par certaines caractéristiques sauvages, très stériles, et présentant un certain nombre de perturbations dans le développement, laissaient peu d'espoir quant à l'utilisation de ces plantes en création variétale. Ce n'est qu'en troisième génération, après sélection de plantes fertiles, qu'il est apparu possible de développer des types nouveaux, transgressifs et de s'affranchir des caractères défavorables induits par l'hybridation interspécifique. Les différents phénomènes sélectifs mis en évidence, s'ils limitent les recombinaisons, conduisent à une évolution spontanée vers un type plus cultivé, et le brassage spontané évite une réduction rapide de la variabilité, tout en favorisant les échanges génétiques entre familles. Ces deux phénomènes ont facilité l'obtention d'un pool très diversifié de plantes introgressées qui, s'il n'est pas directement exploitable en sélection généalogique, constitue une population de départ intéressante pour la sélection.

- L'élimination des caractères sauvages, sous contrôle multigénique, sera plus lente que si ces caractères étaient organisés en *linkat*. Etant donné le peu de générations de recombinaisons, les chromosomes doivent être encore organisés en longs segments d'origines génomiques différentes. La poursuite directe en autofécondation de matériel sélectionné parmi les plantes G3 risque donc de conduire à fixer un grand nombre de gènes défavorables, liés à des gènes favorables. TAILLEBOIS et GUIMARAES (1987) citent les problèmes rencontrés pour s'affranchir de certains caractères tels que l'égrenage, dans des descendances en autofécondation issues de second back cross d'hybrides entre *O. sativa* et *O. longistaminata*, sélectionnées pour le caractère longs stigmates uniquement. La poursuite du brassage semble donc préférable, afin d'améliorer les recombinaisons, et de pouvoir sélectionner des plantes avec un risque plus faible de fixation d'allèles défavorables.

- L'existence de nombreux gènes récessifs défavorables, liés au fardeau génétique de l'espèce sauvage, requiert toutefois le passage par autofécondation pour s'en affranchir rapidement.

D - Perspectives pour la création variétale

Ces remarques nous conduisent à nous interroger sur les schémas optimaux d'utilisation du matériel développé au cours de cette expérience, en vue de la création variétale.

1. Contraintes liées à la riziculture pluviale

La riziculture pluviale, telle qu'elle est traditionnellement menée en Afrique de l'Ouest, sans aucune maîtrise de l'eau et avec des techniques très peu développées, est soumise à plusieurs contraintes, qui rendent compte des faibles rendements observés (VAN DAT, 1985; ANONYME, 1983). La prise en compte de ces contraintes est nécessaire à la définition des objectifs de sélection. En riziculture de plateau, la résistance à la sécheresse est l'un des principaux problèmes rencontrés. Elle est liée au développement racinaire des plantes et à l'adéquation du cycle des variétés et de celui des pluies. Une couverture rapide du sol réduisant le ruissellement et l'évaporation de l'eau d'une part, et facilitant la lutte contre les adventices d'autre part, est également recherchée dans un système où le désherbage est manuel. Les contraintes d'ordre biologique, la lutte contre les maladies et les ravageurs, interviennent également. En riziculture de bas fonds, les objectifs diffèrent; le sol étant submergé pendant une partie du cycle, les problèmes proviennent plus de la toxicité due au fer, de carences en éléments minéraux ou de problèmes phytopathologiques. Sans vouloir faire un inventaire exhaustif des contraintes liées à la riziculture pluviale, on voit la diversité que peuvent prendre les objectifs de sélection dans ce domaine, ces objectifs étant encore modifiés dans un système de culture plus contrôlé, intégrant la mécanisation ou l'apport d'engrais.

Dans un tel cadre, quels peuvent être les apports d'*O. longistaminata* ou de variétés *indica* d'*O. sativa* à la riziculture pluviale ?

Bien que ces deux formes soient très différentes, leurs apports concernent les mêmes domaines:

- en améliorant la croissance ou le tallage au stade jeune, elles amélioreraient la compétitivité des plantes face aux adventices, ou permettrait, en accroissant le tallage, de réduire la densité de semis;
- les variétés *indica* ont une structure racinaire complémentaire de celle des variétés *japonica* (AHMADI, 1983; EKANAYAKE *et al.*, 1985), et il est possible qu'*O. longistaminata* puisse apporter une variabilité nouvelle pour ce caractère;
- en ce qui concerne la résistance aux maladies, des gènes de résistance nouveaux peuvent provenir des formes éloignées, comme le montrent les travaux de KHUSH *et al.* (1988) et de VALES (1985), pour l'apport d'*O. longistaminata*.

2. Les méthodes de création variétale

Les méthodes traditionnelles de sélection appliquées aux espèces autogames présentent certaines limites. En sélection généalogique, le choix précoce, réalisé sur du matériel fortement hétérozygote, s'avère inefficace pour les caractères faiblement héritables. Par ailleurs, en présence d'hétérosis, ce choix risque de favoriser les plantes les plus hétérozygotes, et d'aller à l'encontre des objectifs de fixation. C'est pour ces raisons que d'autres méthodes (Single Seed Descent ou Bulk Method), reportant le moment du choix aux générations avancées, où le matériel est jugé suffisamment fixé, ont été proposées (BRIM, 1966; GOULDEN, 1939). Dans des croisements du type *indica* x *japonica*, présentant des phénomènes de stérilité et de limitations des recombinaisons, la Bulk method, qui favorise les plantes les plus fertiles, risque de réduire d'avantage la proportion de plantes recombinées.

Le matériel complexe développé ici, encore en ségrégation, fournirait l'occasion d'étudier l'influence des conditions de culture sur les distorsions de fréquence allélique. La poursuite en Bulk de descendances fertiles, choisies parmi la G3, pourrait être menée dans les conditions extrêmes, pluviale stricte et irriguée, et comparées une fois le niveau de fixation jugé suffisant. Cette comparaison, au niveau enzymatique et morphologique, renseignerait sur l'influence sélective des conditions de culture.

Nos résultats ont montré qu'en sélectionnant précocément sur la fertilité (par Bulk method), on n'améliorait pas celle-ci, mais qu'en favorisant les plantes les plus autofécondées, on devait éliminer une part plus importante d'allèles défavorables. La Bulk method conduit également à une réduction de la variance par rapport à la SSD. La SSD et la Bulk method diffèrent par le coût en travail, les facteurs sélectifs qui interviennent et la structure génétique des populations reconduites. Les comparaisons de ces deux méthodes tendent à favoriser la SSD, qu'il s'agisse de comparaisons expérimentales (BOERMA et COOPER, 1975; KNOTT et KUMAR, 1975) ou simulées (CASALI et TIGHELAAR, 1975). La SSD est d'ailleurs utilisée chez le riz, afin d'augmenter le nombre de générations d'autofécondation réalisées par an (KIKUSHI, 1978).

Le principal défaut des méthodes classiques, réalisant simultanément la sélection et la fixation par autofécondation, est de restreindre aux toutes premières générations les possibilités de recombinaisons efficaces. Ce phénomène conduit à la fixation d'un grand nombre d'allèles défavorables. Nous avons montré que, dans notre cas, ce problème est accentué par la composition du matériel de départ (l'intervention d'un génome sauvage et la confrontation de génomes *indica* et *japonica* se traduit par un très fort déséquilibre gamétique initial, et par la présence d'un nombre élevé d'allèles défavorables). La poursuite de la sélection en autofécondation à partir de plantes choisies dans la G3 risque donc de limiter le gain réalisable à partir de ce matériel.

Différentes méthodes ont été proposées pour pallier ces limites :

- la méthode des rétrocroisements constitue un travail fastidieux, mais a pu être envisagée, en l'associant à un système de stérilité mâle (FUJIMAKI, 1978);

- l'intercroisement de lignées sélectionnées s'est avéré efficace chez le blé (BALYAN et VERMA, 1985) et chez *Vigna* (DAHIYA et SINGH, 1985). KHUSH (1978) suggère d'utiliser une méthode du type "diallele selective mating system", proposée par JENSEN (1970), pour la sélection de résistances polygéniques. Cette méthode consiste à intercroiser plusieurs hybrides F1, à sélectionner les plantes les plus résistantes, qui sont de nouveau intercroisées, pendant plusieurs cycles;

- GALLAIS (1977, 1981) a généralisé ce type de schéma en proposant de séparer la création variétale de l'amélioration des populations, et a montré que l'alternance d'une phase d'intercroisements (qui favorise les recombinaisons) et d'autofécondations (qui facilite la sélection) conduisait à un progrès génétique à long terme important, sur plusieurs cycles de "sélection récurrente". SILVELA et DIEZ-BARRA (1985) ont montré par simulation l'avantage de la sélection récurrente lorsque la population initiale est en déséquilibre de linkage négatif. Cette méthode est depuis longtemps appliquée à l'amélioration des espèces allogames, mais son application aux espèces autogames est plus récente et demeure rare : on peut cependant citer les cas d'améliorations obtenues par cette méthode chez le tabac (MATZINGER *et al.*, 1977), chez le soja (BURTON *et al.*, 1983; KENWORTHY et BRIM, 1979), l'orge (DELOGU *et al.*, 1988) ou le sorgho (OBILANA, 1985; LOTHROP *et al.*, 1985). Ces travaux diffèrent par le nombre de générations d'autofécondation avant la sélection (une ou deux) et par l'utilisation de la stérilité mâle ou la réalisation manuelle des croisements. On peut également mentionner les possibilités d'utiliser l'haplodiploïdisation, afin de développer rapidement des lignées à l'issue du brassage (CHOO et KANNENBERG, 1978; GALLAIS, 1986) . Chez le riz, IKEHASHI et FUJIMAKI (1980) expliquent l'intérêt de cette méthode pour la création variétale, mais demeurent dans une optique théorique. A notre connaissance, seul TAILLEBOIS (1983) a envisagé de l'utiliser en vue de la création de variétés hybrides F1.

Ce type de schéma paraît particulièrement adapté au matériel développé dans cette expérience: en effet, un passage par autofécondation est nécessaire pour éliminer les allèles défavorables liés au fardeau d'*O. longistaminata*, mais il semble encore nécessaire d'améliorer les recombinaisons, notamment afin de rompre les liaisons entre gènes défavorables et favorables. Nous avons vu que le brassage naturel était limité par la restauration de la fertilité. Dans ce cas, les intercroisements devront être réalisés à la main.

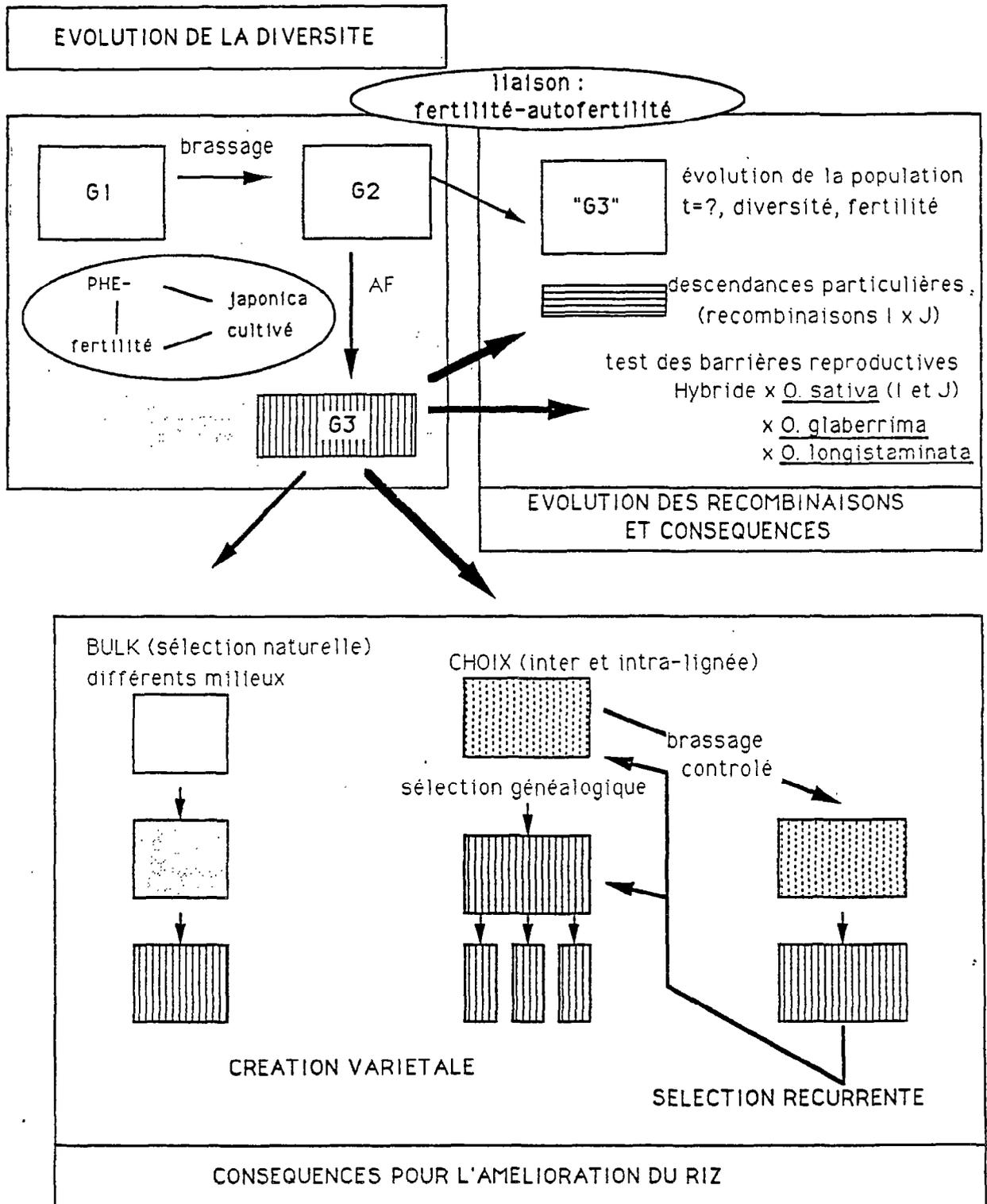


FIGURE 46 : Principales perspectives d'utilisation du matériel introgressé développé au cours de cette étude:

- en vue de l'analyse des barrières reproductives et du suivi des recombinaisons
- en vue de la création variétale.

CONCLUSION GENERALE

Cette expérience a permis de développer un matériel original et diversifié, qu'il semble intéressant d'utiliser, d'une part pour approfondir l'étude des recombinaisons intergénomiques et des mécanismes responsables de l'isolement entre les deux sous espèces d'*O. sativa*, d'autre part, en vue de la création variétale. Les différentes voies d'utilisation de ce matériel sont récapitulées à la FIGURE 46.

Nous avons montré que, malgré la forte barrière reproductive, l'hybridation entre *O. longistaminata* et *O. sativa*, sous forme de back cross interspécifiques, était possible et générait une importante diversité morphologique, fortement marquée par certaines caractéristiques de l'espèce sauvage ainsi que par une stérilité élevée.

Cependant, cette stérilité, associée à de longs stigmates, favorise les intercroisements entre plantes et conduit à la confrontation naturelle de génomes différents, ce qui favorise les recombinaisons entre ces génomes et provoque l'accroissement de la variance totale en seconde génération. La perte spontanée d'allèles de l'espèce sauvage, liée à l'amélioration de la fertilité, provoque par ailleurs un retour vers un phénotype plus cultivé.

La sélection, dans la population, des plantes les plus fertiles s'est également avérée efficace, et, bien qu'on observe certaines associations de caractères qui semblent indiquer des limitations de recombinaisons, la diversité maintenue dans le troisième essai apparaît exploitable dans un schéma de création variétale, et non limitée. Les lignées étudiées au cours de cet essai ont révélé les possibilités d'obtenir des transgressions par rapport aux variétés parentales pour plusieurs caractères quantitatifs, et il semble important de poursuivre le brassage à partir de ce matériel, afin d'affiner les recombinaisons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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'Agronomie Tropicale* 38 (2): 110-122.
- ALEXANDER, M.P. 1969. Differential staining of aborted and non aborted pollen. *Stain Technology* 44: 117-122.
- ALLARD, R.W. 1956. Formulas and tables to facilitate the calculation of recombination values in heredity. *Hilgardia* 24: 235-278.
- ANGUETE, K. 1987. Etude morphologique et enzymatique de quelques descendants d'hybrides interspécifiques de riz (*O. longistaminata* x *O. sativa*) x *O. sativa*. Mémoire de 1^oannée. E.N.S.A. Abidjan: 51p.
- ANONYME, 1983. Technologie du développement de la riziculture pluviale en Afrique. *Bull. Comm. Int. Riz* vol 32: 1-15.
- ARRAUDEAU, M. 1975. Réflexions sur le choix des géniteurs et sur certaines voies d'obtention de variétés nouvelles chez le riz (*O. sativa* L.). *L'Agronomie Tropicale* 30 (1): 8-17.
- BARBIER, P. 1987. Ecological genetic study on wild rice populations from Thailand. M.S. thesis. Nagoya University: 122p.
- BALYAN, H.S. et VERMA, A.K. 1985. Relative efficiency of two mating systems and selection procedures for yield improvement in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 71: 111-118.
- BOERMA, H. R. et COOPER, R.L. 1975. Comparison of three selection procedures for yield in soybean. *Crop. Sci.* 15: 225-229.
- 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 Oct. au 23 Déc. 1977. Rapport multigraphié ORSTOM: 18p.
- BOUHARMONT, J. 1961. Embryo culture of rice on sterile medium. *Euphytica* 10 : 228-293.
- BOUHARMONT, J. 1963. Recherches cytogénétiques sur quelques hybrides interspécifiques d'*Oryza*. La cellule. *Recueil de Cytologie et d'Histologie* 63: 53-132.
- BOUHARMONT, J. 1982. Cytologie et problèmes de stérilité chez les hybrides interspécifiques d'*Oryza* (Graminées). *Bull. Soc. Roy. Belg.* 115:143-148.
- BRIM, C.A. 1966. A modified pedigree method of selection in soybeans. *Crop Sci.* 6: 220.
- BROWN, A.H.D. and ALLARD, R.W. 1970. Estimation of the mating system in open pollinated maize populations using isozyme polymorphisms. *Genetics* 66:133-145.
- BROWN, A.H.D., ZOHARY, D. and NEVO, E. 1978. Outcrossing rates and heterozygosity in natural populations of *Hordeum spontaneum* Koch. in Israel. *Heredity* 41 (1): 49-62.
- BURR, B., EVOLA, S.V., BURR, F.A. and BECKMANN, J.S. 1983. The application of RFLP to plant breeding. In *Genetics engineering principles and methods*. Vol. 5, J. K. Setlow and A. Hollander eds, Plenum Press, New-York, 45-59.
- BURTON, J.W., WILSON, R.F. and BRIM, C.A. 1983. Recurrent selection in soybeans. IV. Selection for increased oleic acid percentage in seed oil. *Crop. Sci.* 23: 744-747.

- CARDY, B.J., STUBER, C.W. and GOODMAN, M.N. 1981. Techniques for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). Institute of Statistics Monograph Series n° 1317. North Carolina State University.
- CASALI, V.M. et TIGHELAAR, E. 1975. (a) Breeding progress in tomato with pedigree selection and single seed descent. - (b) Computer simulation studies comparing pedigree, bulk, and single seed descent in self pollinated populations. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **100** (4): 362-364 (a) & 364-367 (b).
- CAUSSE, M. 1985. Etude bibliographique sur les méthodes de création variétale chez les plantes autogames. Mémoire de D.E.A. Université Paris XI. Orsay: 55 p.
- CAUSSE, M. et GHESQUIERE, A. 1987. Variabilité génétique d'une espèce sauvage de riz, *Oryza longistaminata* A. Chev. & Roehr; mise en évidence de différentes stratégies reproductives. 8^{ème} Réunion du Groupe de Biologie et de Génétique des Populations. Pau. 2-4 Sept. 1987.
- CHANDRARATNA, M.F. 1964. Genetics and breeding of rice. Longmans. Green. New-York: 389 p.
- CHANG, T.T. 1976a. Rice. In *Evolution of crop plants*. N.W. Simmonds ed. University of California. Berkley Press: 98-104.
- CHANG, T.T. 1976b. The origin, evolution, cultivation, dissemination and diversification of Asian and African rices. *Euphytica* **25**: 425-441.
- CHANG, T.T., ADAIR, C.R. and JOHNSTON, T.H. 1983. The conservation and use of rice genetic resources. *Advances in Agronomy* **35**: 37-91.
- CHANG, T.T. and BARDENAS, E.A. 1965. The morphology and varietal characteristics of the rice plant. *Techn. Bull. I.R.R.I. (Philippines)* **4**: 40 p.
- CHATEL, M. et DECHANET, R. 1980. Analyse diallèle de quelques caractères quantitatifs chez le riz. *L'Agronomie Tropicale* **35** (4):402-414.
- CHOO, T.M. and KANNENBERG, W. 1978. The efficiency of using doubled haploids in a recurrent selection program in a diploid, cross-fertilized species. *Can. J. Genet. Cytol.* **20**: 505-511.
- CHU, Y.E., MORISHIMA, H. and OKA, H.I. 1969a. Reproductive barriers distributed in cultivated rice species and their wild relatives. *Jpn. J. Genet.* **44**: 207-223.
- CHU, Y.E., MORISHIMA, H. and OKA, H.I. 1969b. Partial self incompatibility found in *Oryza perennis* subsp. *barthii*. *Jpn. J. Genet.* **44** : 207-223.
- CHU, Y.E. and OKA, H.I. 1970a. The genetic basis of crossing barriers between *Oryza perennis* subsp. *barthii* and its related taxa. *Evolution* **24** : 135-144.
- CHU, Y.E. and OKA, H.I. 1970b. Introgression across isolating barriers in wild and cultivated *Oryza* species. *Evolution* **24** : 344-355.
- CLEGG, M.T. and EPPERSON, B.K. 1985. Recent developments in population genetics. V. Genetic analysis of plant mating systems. *Advances in Genetics* **23**: 255-269.
- CLEGG, M.T., KAHLER, A.L. and ALLARD, R.W. 1978. Estimation of life cycle components of selection in an experimental plant population. *Genetics* **89**: 765-792.

- CLEMENT, G. et POISSON, C. 1982. Analyse intra et intergroupe chez *Oryza sativa*. Incidences en sélection. Réunion ORSTOM-IRAT, 1-3 Sept. 1982. 29p.
- CLEMENT, G. et POISSON, C. 1984a. Analyse de croisements intra et intergroupes chez *O. sativa*. Application à la sélection du riz pluvial en Côte d'Ivoire. *Mémoires et Travaux*. IRAT. Paris. n°8. 78p.
- CLEMENT, G. et POISSON, C. 1984b. Analyse diallèle de 3 caractères quantitatifs chez 5 variétés précoces de riz (*Oryza sativa*). Application à la sélection. *L'Agronomie Tropicale* 39 (2): 153-165.
- CLEMENT, G. et POISSON, C. 1986. Les problèmes de la stérilité dans les croisements *indica* par *japonica* pour l'amélioration du riz (*O. sativa* L.). I. La recherche de la compatibilité hybride. *L'Agronomie Tropicale* 41 (1): 27-36.
- DAHIYA, B.N. et SINGH, V.P. 1985. Comparative efficacy of pedigree selection and selective intermating in greengram *Vigna radiata* L. *Theor. Appl. Genet.* 71: 129-132.
- DALLY, A. M. 1988. Polymorphisme des longueurs des fragments de restriction de l'A.D.N. chloroplastique dans la section *Eu-Oryza* du genre *Oryza* (riz) et implications phylogénétiques. Thèse de Doctorat en Sciences, U.S.T.L., Montpellier, 160p.
- DAMERVAL, C. et de VIENNE, D. 1985. Divergence morphologique et divergence moléculaire. 1- Apport des marqueurs protéiques. In *Les distances génétiques - Estimations et applications*. M. Lefort-Buson et D. de Vienne eds., INRA, Paris: 61-80.
- DAMERVAL, C., HEBERT, Y. and de VIENNE, D. 1987. Is the polymorphism of protein amounts related to phenotypic variability? A comparison of two-dimensional electrophoresis data with morphological traits in maize. *Theor. Appl. Genet.* 74: 194-202.
- DELOGU, G., LORENZONI, C., MAROCCO, A., MARTINIELLO, P. ODOARDI, M. and STANCA, A.M. 1988. A recurrent selection programme for grain yield in winter barley. *Euphytica* 37: 105-110.
- EKANAYAKE, I.J., O'TOOLE, J.C., GARRITY, D.P. and MASAJO, T.M. 1985. Inheritance of root characters and their relations to drought tolerance in rice. *Crop. Sci.* 25: 927-933.
- EMPIG, L.T. and FEHR, W.R. 1971. Evaluation of methods for generation advance in bulk hybrid soybean populations. *Crop Sci.* 11: 51-54.
- ENDO, T. and MORISHIMA, H. 1983. Current status of isozyme research in individual plant species. 6. Rice. In *Isozyme in Plant Genetics and Breeding*. Elsevier. Isozyme Monograph. Amsterdam: 30p.
- ENGEL, L.M., CHANG, T.T. and RAMIREZ, D.A. 1969. The cytogenetics of sterility in F1 hybrids of *indica* x *indica* and *indica* x *javanica* varieties of rice (*Oryza sativa* L.). *The Philippine agriculturist* 53: 289-307.
- FREY, K.J. 1983. Genes from wild relatives for improving plants. In *Proc. 4th Int. SABRAO Cong.* Kuala Lumpur (4-8 May 1981): 1-20.
- FUJIMAKI, H. 1978. New techniques in backcross breeding for rice improvement. *Proc. Symp. on Tropical Agriculture Research*. Yatabe, Japan: 55-67.
- GALLAIS, A. 1977. Amélioration des populations, méthodes de sélection et de création de variétés. I- Synthèse sur les problèmes généraux et les bases théoriques pour la sélection récurrente intra-population. *Ann. Amel. Pl.* 27 (3): 281-329.

- GALLAIS, A. 1981. Amélioration des populations en vue de la création de variétés. *Le Sélectionneur français* 29: 5-23.
- GALLAIS, A. 1986. Place de l'haplodiploidisation dans les schémas de sélection. *Le Sélectionneur français* 36: 47-58.
- GHSQUIERE, A. 1985. Evolution of *Oryza longistaminata*. In *Rice Genetics. Proc. Int. Rice Genet. Symp.*, Los Banos, Philippines: 15-27.
- GHSQUIERE, A. 1988. Diversité génétique de l'espèce sauvage de riz, *Oryza longistaminata* A.Chev. et Roehr et dynamique des flux géniques au sein du groupe *Sativa* en Afrique. Thèse d'Etat. Université Paris XI, Orsay: 228p.
- GHSQUIERE, G. et MIEZAN, K. 1982. Etude de la structure génétique des variétés traditionnelles de riz en Afrique. Réunion ORSTOM-IRAT, 1-3 Sept. 1982. Rapport multigraphié ORSTOM: 31p.
- GHSQUIERE, A. et SECOND, G. 1983. Polymorphisme enzymatique et évolution d'*Oryza sativa*. Colloque *Electrophorèse et Taxonomie*. Mémoire n° 42 de la Société Zoologique de France, 1985: 263-272.
- GLASZMANN, J. C. 1982. Variabilité enzymatique du riz (*Oryza sativa* L.), son importance pour la compréhension de la structure écogéographique de l'espèce. Thèse de Docteur Ingénieur INAPG, Paris: 128p.
- GLASZMANN, J. C. 1985. A varietal classification of asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) based on isozyme polymorphism. In *Rice Genetics. Proc. Int. Rice Genet. Symp.*, Los Banos, Philippines: 83-90.
- GLASZMANN, J.C. 1987. A simplified method to classify rice varieties with isozymes. *Int. Rice Res. Newsl.* 12 (3): 5-7.
- GLASZMANN, J.C. and ARRAUDEAU, M. 1986. Rice plant type variation: "japonica" - "javanica" relationships. *RGN* 3: 41-43.
- GLASZMANN, J. C., BENOIT, H. et ARNAUD, M. 1984. Classification des riz cultivés (*Oryza sativa* L.). Utilisation de la variabilité enzymatique. *L'Agronomie Tropicale* 39: 51-66.
- GOULDEN, C.H. 1939. Problems in plant selection. *Proc. of the 7th Int. Genet. Congr.* Edimburgh. 23-30 Aug. 132-133.
- GRANT, V. 1967. Linkage between morphology and viability in plant species. *The American Naturalist* 101, n° 918: 125-138.
- GRIGNAC, P., POUX, J. et TOMAS, A. 1978. Comparaison de différentes méthodes de sélection utilisées pour l'amélioration des variétés de blé. *Ann. Amél. Pl.* 28 (4): 341-350.
- HARDING, H. and TUCKER, C.L. 1969. Quantitative studies on mating systems. III. Methods for the estimation of male gametophytic selective values and differential outcrossing rates. *Evolution* 23:85-95.
- HARLAN, J.R. 1976. Genetic resources in wild relatives of crops. *Crop. Sci.* 16: 329-333.
- HARLAN, J.R., de WET, J.M.J. and GLEN PRICE, E. 1973. Comparative evolution of cereals. *Evolution* 27: 311-325.

- HERMSEN, J.G.TH. 1984. Some fundamental considerations on interspecific hybridization. *Iowa State Journal of Research* 58 (4): 461-474.
- HUNG, H.H. and CHANG, T.T. 1976. Aberrant segregation of three genes in crosses between upland and lowland varieties of rice. *SABRAO Journal* 8:127-134.
- IKEHASHI, H. 1977. Simulation of single seed descent in self-pollinating population. I- Advance of polygenic recombination through generations. *Japan. J. Breed.* 27 (4): 367-377.
- IKEHASHI, H. 1982. Prospects for overcoming barriers in the utilisation of *indica* - *japonica* crosses in rice breeding. *Oryza* 19: 69-77.
- IKEHASHI, H. and ARAKI, H. 1984. Varietal screening of compatibility types revealed in F1 fertility of distant crosses in rice. *Japan. J. Breed.* 34: 304-313.
- IKEHASHI, H. and ARAKI, H. 1987. Screening and genetic analysis of wide-compatibility in F1 hybrids of distant crosses in rice, *Oryza sativa* L. *Tech. Bull., Tropical Agricultural Center, Japan.* Nat. Inst. Agrobiol. Resources, Japan n° 23: 79p.
- IKEHASHI, H. and FUJIMAKI, H. 1980. Modified bulk population method for rice breeding. In *Innovative approaches to rice breeding* . Selected papers from the 1979 International Rice Research Conference. International Rice Research Institute. 163-182.
- ISHIKAWA, R., KINOSHITA, T. and MORISHIMA, H. 1986. A preliminary report on trisomic analysis of genes for isozymes. *RGN* 3: 53-55.
- ISHIKAWA, R. KINOSHITA, T. and MORISHIMA, M. 1987. Trisomic analysis of genes for isozymes: location of Cat-1, Acp-1 and Pox-2 on chromosomes. *RGN* 4: 74-76.
- JACQUOT, M. et ARNAUD, M. 1979. Classification numérique de variétés de riz. *L'Agronomie Tropicale* 34 (2): 157-173.
- JAIN, S.K. 1979. Estimation of outcrossing rates: some alternative procedures. *Crop Sci.* 19: 23-26.
- JENSEN, N.F. 1970. A diallel selective mating system for cereal breeding. *Crop. Sci.* 10: 629-635.
- JIN, I.T. and OMURA, T. 1982. Inheritance of shedding character and formation of abscission layer in rice plant. *Japan. J. Breed.* 32 (3): 290-295.
- JODON, N.E. 1957. Inheritance of the more striking characters in rice. *J. Hered.* 3: 7-27.
- JOLY, H. and SARR, A. 1985. Preferential associations among characters in crosses between pearl millet (*Pennisetum typhoides*) and its wild relatives. In *Genetic Differentiation and Dispersal in Plants*. P. Jacquard et al. eds. NATO ASI Series vol. G5. 95-111.
- KAHLER, A.L., CLEGG, M.T. and ALLARD, R.W. 1975. Evolutionary changes in the mating system of an experimental population of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 79: 943-946.
- KATO, S., KOSAKA, H., HARA, H., MARUYAMA, Y. and TAKIGUSHI, Y. 1930. On the affinity of the cultivated varieties of rice plants *Oryza sativa* L. *J. Dep. Agr. Kyushu Imp. Univ.* 2: 241-276.
- KENWORTHY, W.J. and BRIM, C.A. 1979. Recurrent selection in soybeans. I- Seed yield. *Crop. Sci.* 19: 315-318.

- KESSELI, R.V. and JAIN, S.K. 1985. Breeding systems and population structure in *Limnanthes*. *Theor. Appl. Genet.* **71**: 292-299.
- KHUSH, G.S. 1978. Breeding methods and procedures employed at IRRI for developing rice germ plasm with multiple resistance to diseases and insects. *Proc. Symp. on Tropical Agriculture Research*. Yatabe, Japan: 69-75.
- KHUSH, G.S., SITCH, L.A. and JENA, K.K. 1988. Wide hybridization for rice improvement. In *Annual Meeting of the Rockefeller Foundation Program on Rice Biotechnology - Abstracts* - 20-22 Jan. 1988, IRRI, Philippines. 1p.
- KHUSH, G.S., SINGH, R.J., SUR, S.C., LIBROJO, A.L. 1984. Primary trisomic of rice : origin, morphology cytology and use in linkage mapping. *Genetics* **107**: 141-163.
- KIKUSHI, F. 1978. Acceleration methods for generation advancement in hybrid population of rice. *Proc. Symp. on Tropical Agriculture Research*. Yatabe, Japan: 83-94.
- KINOSHITA, T. 1984. Gene analysis and linkage map. In *Biology of Rice*. S. Tsuroda and N. Takahashi eds. Japan. Sci. Soc. Press Tokyo. Elsevier Amsterdam: 187-274.
- KOCHKO (De), A. 1983. Travaux réalisés au centre ORSTOM d'Adiopodoumé. Etude de la variabilité morphologique des cultivars traditionnels africains de l'espèce *Oryza sativa*. Etude de la variabilité enzymatique et évolution de *Oryza sativa* en Afrique. Rapport d'élève ORSTOM: 65p.
- KOCHKO (De), A. 1987. Isozymic variability of traditional rice *Oryza sativa* L. in Africa. *Theor. Appl. Genet.* **73**: 675-682.
- KNOTT, D.R. and KUMAR, J. 1975. Comparison of early generation yield testing and a single seed descent procedure in wheat breeding. *Crop. Sci.* **15**: 295-299.
- KURIYAMA, H. and KUDO, M. 1967. Complementary genes Ph and Bh controlling ripening black coloration of rice hulls and their geographical distribution. *Japan. J. Breed.* **17**: 13-19.
- LIN, M.H. and CHANG, T.T. 1981. Inheritance of agronomic traits and character association in crosses between dryland and wetland cultivars of rice. *SABRAO Journal* **13** (1): 11-23.
- LOTHROP, J.E., ATKINS, R.E. and SMITH, O.S. 1985. Variability for yield and yield components in IAP1R grain sorghum random-mating population. II- Correlations, estimated gains from selection, and correlated responses to selection. *Crop Sci.* **25**: 240-244.
- Mac COUCH, S.R., KOCHERT, G., YU, Z.H., WANG, Z.Y., KHUSH, G.S., COFMAN, W.R. and TANKSLEY, S.D. 1988. Molecular mapping of rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* **76**: 815-829.
- MATZINGER, D.F., COCKERHAM, C.C. and WERNSMAN, E.A. 1977. Single character and index mass selection with random mating in a naturally self-fertilizing species. In E. Pollak, O. Kempthorne and T.B. Bailey eds., *Proc. Intern. Conf. on Quant. Genet.* The Iowa State University Press, Ames: 503-518.
- MIEZAN, K. et GHESQUIERE, A. 1985. Genetic structure of african traditional rice cultivars. In *Rice Genetics. Proc. Rice Genet. Symp.*, IRRI, Los Banos, Philippines: 91-107.
- MORISHIMA, H. 1969. Differentiation of pathogenic races of *Pyricularia oryzae* into two groups, "indica" and "japonica". *SABRAO Newsletter* **1** (2): 81-94.

- MORISHIMA, H. 1985. Habitat, genetic structure and dynamics of perennial and annual populations of the asian wild rice *Oryza perennis*. *Proc. NATO Adv. Res. Workshop Pop. Biol. Pl* . Montpellier. 179-190.
- MORISHIMA, H. and GLASZMANN, J.C. 1986. Gene symbols for isozymes. *RGN* 3 :15-17.
- MORISHIMA, H. and OKA, H.I. 1981. Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XXII. Numerical evaluation of the *indica-japonica* differentiation. *Japan. J. Breed.* 31 (4): 402-413.
- MUEHLBAUER, F.J., BURNELL, D. J., BOGYO, T.P. and BOGYO, N.T. 1981. Simulated comparisons of single seed descent and bulk population breeding methods. *Crop Sci.* 21: 572-577.
- NAKAGAHRA, M. 1972. Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice. *Japan J. Breed.* 22 : 232-238.
- NAKAGAHRA, M. 1978. The differentiation , classification and center of genetic diversity of cultivated rice (*O. sativa* L.) by isozyme analysis. *Proc. Symp. on Tropical Agriculture Research*. Yatabe. Japan: 77-82.
- NAKAGAHRA, M. 1985. Geographic distribution of gametophytic genes in wild crosses of rice cultivars. In *Rice Genetics. Proc. Int. Rice Genet. Symp.* , Los Banos, Philippines: 73-83.
- NAKAGAHRA, M., OMURA, T. and IWATA, N. 1972. Gametophyte genes and their loci on the eleventh linkage group of cultivated rice. *Japan. J. Breed.* 22 (6): 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.
- NAYAR, N. M. 1967. Prevalence of selfincompatibility in *O. barthii* Cheval.; its bearing on the evolution of rice and related taxa. *Genetica* 38 : 521-527.
- NOIROT, M., DESJARDIN, J., MULLON, M. et SAVY, L. NDMS: Logiciel de traitement statistique à l'usage des biologistes. *LOGOR*, ORSTOM, Paris (à paraître).
- OBILANA, A.T. 1985. Recurrent selection schemes in photosensitive sorghum populations. *Z.Pflanzenzüchtg* 95: 221-229.
- OKA, H.I. 1953a. Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. VIII. Gene analysis of the intervarietal hybrid sterility and certation due to certain combinaisons of gamete development in rice. *Japan. J. Breed.* 2: 217-224.
- OKA, H.I. 1953b. Phylogenetic differentiation of the cultivated rice plant. IX. Influence of intervarietal hybrid sterility on segregation ratios in rice. *Japan. J. Breed.* 3: 31-39.
- OKA, H.I. 1957. Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XV. Complementary lethal gene in rice. *Jpn. J. Genet.* 32 : 83-87.
- OKA, H.I. 1958. Intervarietal variation and classification of cultivated rice. *Ind. J. Genet. & Pl. Breed.* 18: 78-89.
- OKA, H.I. 1974a. Experimental studies on the origin of cultivated rice. *Genetics* 78: 475-486.
- OKA, H.I. 1974b. Analysis of genes controlling F1 sterility in rice by the use of isogenic lines. *Genetics* 77 : 521-534.

- 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. *Jpn. J. Genet.* 53 (6): 397-410.
- OKA, H.I. 1983. The *indica-japonica* differentiation of rice cultivars. A review. *Proc. 4th Int. SABRAO Cong.* Kuala Lumpur (4-8 May 1981): 117-128.
- OKA, H.I. and CHANG, W.T. 1959. The impact of cultivation on populations of wild rice, *Oryza sativa*, f. *spontanea*. *Phyton* 13 (2): 105-117.
- OKA, H.I. and DOIDA, Y. 1962. Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XX. Analysis of the genetic basis of hybrid breakdown in rice. *Jpn. J. Genet.* 37 (1): 24-35.
- OKA, H.I. and MORISHIMA, H. 1967. Variations in the breeding systems of a wild rice *O. perennis*. *Evolution* 21: 249-258.
- OKA, H.I. and MORISHIMA, H. 1971. The dynamics of plant domestication: cultivation experiments with *Oryza perennis* and its hybrid with *O. sativa*. *Evolution* 25: 356-364.
- OKA, H.I. and MORISHIMA, H. 1982. Phylogenetic differentiation of cultivated rice. XXIII-Potentiality of wild progenitors to evolve the *indica* and *japonica* types of rice cultivars. *Euphytica* 31: 41-50.
- OMURA, T. 1982. Problems in intersubspecies hybridization in cultivated rice. In *Japan's Role in Tropical Rice Research*. Summary report of Seminar. 27 Sept 1980. Kyushu University Press. Japan. IRRI ed.
- 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.
- PARMAR, K.S., SIDDIQ, E.A. and SWAMINATHAN, M.S. 1979. Variation in components of flowering behaviour of rice. *Ind. J. Genet. Plant Breed.* 39 (3): 542-559.
- PERNES, J. 1983. Point de vue génétique sur la domestication des céréales. *La Recherche* 146: 910-919.
- PERNES, J. 1986. Incidences du mode de reproduction (autogamie, allogamie) sur la domestication des céréales. *Coll. Nat. CNRS Biologie des Populations* Lyon 4-6 Sept. 1986: 80-83.
- PHAM, J. L. 1984. Hybridations interspécifiques chez *Oryza sativa* L. : Etude de quelques hybrides F1 et descendances F2. Rapport d'élève ORSTOM: 56p.
- PHAM, J. L., GLASZMANN, J.C., SANO, R., BARBIER, P., GHESQUIERE, A. and SECOND, G. Genetic control and linkage for twelve enzymes in rice. (en préparation).
- PORTERES, R. 1949. Le riz vivace de l'Afrique (*O. barthii* A. Chev.). *L'Agronomie Tropicale* IV: 5 - 24.
- RANJHAN, S., GLASZMANN, J.C., and KHUSH, G.S. 1986. Localization of Pgi-1, Est-9 and Adh-1 on rice chromosomes by trisomic analysis. *RGV* 3: 56-58.
- RICK, C.M. 1963. Differential zygotic lethality in a tomato species hybrid. *Genetics* 48: 1497-1507.

- RICK, C.M. 1969. Controlled introgression of chromosomes of *Solanum penellii* into *Lycopersicon esculentum* : segregation and recombination. *Genetics* 62: 753-768.
- RITLAND, K. and JAIN, S. 1981. A model for the estimation of the outcrossing rate and gene frequencies using independent loci. *Heredity* 47 (1): 35-52.
- ROBIN, M.H. 1986. Relations entre *O. longistaminata* et les riz cultivés à travers l'étude d'un essaim d'hybrides naturels. Mémoire de stage ISTOM. Rapport multigraphié ORSTOM: 58p.
- SANO, R. and BARBIER, P. 1985. Analysis of five isozyme genes and chromosomal location of Amp-1. *RGN* 2 : 60-62.
- SANO, R. and MORISHIMA, H. 1984. Linkage relationships among 6 polymorphic isozyme loci in rice cultivars. *Jpn. J. Breed.* 34: 252-253.
- SANO, Y. 1985. Sterility barriers between *O. sativa* and *O. glaberrima*. In *Rice Genetics. Proc. Int. Rice Genet. Symp.*, Los Banos, Philippines: 109-118.
- SANO, Y., CHU, Y.E. and OKA H.I., 1979. Genetic studies of speciation in cultivated rice. 1. Genic analysis for the 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 *Oryza sativa* and *O. glaberrima* : M-V linkage and key characters. *Jpn. J. Genet.* 55 (1):19-39.
- SATO, Y.I., SANO, Y. and NAKAGAHARA, M. 1987. Gene symbols for gametic effect, sterility and weakness. *RGN* 4: 46-51.
- 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.
- SECOND, G. 1984. Relations évolutives chez le genre *Oryza* et processus de domestication des riz. Thèse d'Etat, Université Paris XI, Orsay. *Col. Etudes et thèses* . ORSTOM, Paris, 1985. 189p.
- SECOND, G. 1985. Evolutionary relationships in the *Sativa* group of *Oryza* based on isozyme data. *Génet. Sél. Evol.* 17 : 89-114.
- SECOND, G., BEZANCON, G. et BOZZA, J. 1977. Variabilité d'*O. longistaminata* et du complexe *Sativa* des *Oryzae* en Afrique: aspects écologiques et évolutifs. In *Réunion sur les espèces africaines de riz*. Document IRAT-ORSTOM, Paris. 47-55.
- SECOND, G. et MORISHIMA, H. 1981. Mendelian segregation analysis at 3 isozyme loci in rice cultivars. *Natl. Inst. Genet. Mishima. 1980 Annual Report* : 117-118.
- SECOND, G. et TROUSLOT, P. 1980. Electrophorèse d'enzymes de riz (*Oryza spp.*). *Travaux et Documents de l'ORSTOM* . ORSTOM, Paris: 88p.
- SHASTRY, S.V.S. 1964. Chromosome structural differentiation, isolating mechanisms and speciation in *Oryza*. In *Rice Genetics and Cytogenetics*. IRRI ed. Elsevier Publ. Co: 117-117.
- SHASTRY, S.V.S., RAO, D.R.R. and MISRA, R.N. 1960. Pachytene analysis in *Oryza*. I Chromosome morphology in *Oryza sativa*. *Ind. J. Genet. Plant Breed.* 20 : 15-21.
- SHAW, D.V. and ALLARD, R.W. 1982. Estimation of outcrossing rates in Douglas fir using isozymes markers. *Theor. Appl. Genet.* 62: 113-120.

- SHAW, D.V., KAHLER, A.L. and ALLARD, R.W. 1981. A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **78** (2): 1298-1302.
- SHRIVASTAVA, M.N. and SESHU, D.V. 1983. Combining ability for yield and associated characters in rice. *Crop Sci.* **23**: 741-744.
- SIDDIQ, E.A., SADANANDA, A.R. and ZAMAN, F.U. 1985. Use of primary trisomics of rice in genetic analysis. In *Rice Genetics; Proc. Int. Rice Genet. Symp.*, IRRI, Los Banos, Philippines: 185-197.
- SILVELA, L. and DIEZ-BARRA, R. 1985. Recurrent selection in autogamous species under forced random mating. *Euphytica* **34**: 817-832.
- STEBBINS, G.L. 1950. Variation and evolution in plants. Oxford University Press.
- STEPHENS, S.G. 1949. The cytogenetics of speciation in *Gossypium*. I. Selective elimination of the donor parent genotype in interspecific backcrosses. *Genetics* **34**: 627-637.
- TAILLEBOIS, J. 1983. Transfert de l'allogamie d'*Oryza longistaminata* à *Oryza sativa*. Thèse de Docteur Ingénieur, ENSA et Université de Rennes: 116p.
- TAILLEBOIS, J. et GUIMARAES, E. 1987. Obtention chez le riz de lignées femelles permettant une production économique de semences hybrides. *L'Agronomie Tropicale* **42** (2): 121-125.
- TAKAHASHI, M.E. 1982. Gene analysis and its related problems. Genetical studies on rice plant LXXX. *J. Fac. Hokkaido Univ.* **61**: 91-142.
- TAKAHASHI, N. and HAMZA, H.A. 1983. Differentiation of ecotypes in *Oryza sativa* L. 1. Re-examination for color reaction with phenol. *Japan. J. Breed.* **33** (3): 243-250.
- TAKAHASHI, N. 1985. Phenol color reaction of seed integuments in rice. In *Rice Genetics. Proc. Int. Rice Genet. Symp.*, IRRI, Los Banos, Philippines: 361-367.
- TANKSLEY, S.D. 1983. Molecular markers in plant breeding. *Plant. Mol. Biol.* **1**: 3-8.
- TANKSLEY, S.D., MEDINA FILHO, H. and RICK, C.M. 1981. The effect of isozyme selection on metric characters in an interspecific backcross of tomato. Basis of an early screening procedure. *Theor. Appl. Genet.* **60**: 291-296.
- 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** (1): 11-25.
- TANKSLEY, S.D. and RICK, C.M. 1980. Isozymic gene linkage map of tomato. Applications in genetics and breeding. *Theor. Appl. Genet.* **57**: 161-170.
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H. and BONIERBALE, M.W. 1989. RFLP mapping in plant breeding - New tools for an old science. *Biotechnology* (à paraître).
- TATEOKA, T. 1963. Taxonomic studies of *Oryza* III. Key to the species and their enumeration. *Bot. Mag. Tokyo* **76**: 165-173.
- VALES, M. 1985. Etude de la résistance complète à *Pyricularia oryzae* Cav. d'hybrides *Oryza sativa* x *Oryza longistaminata* et de leurs parents *O. longistaminata*. *L'Agronomie Tropicale* **40** (2): 148-155.

VALLEJOS, C.E. and TANKSLEY, S.D. 1983. Segregation of isozyme markers and cold tolerance in an interspecific backcross of tomato. *Theor. Appl. Genet.* **66**: 241-247.

VAN DAT, T. 1985. Le riz pluvial. *Bull. Comm. Intern. Riz* **34**: 1-17.

VIRMANI, S.S., AQUINO, R.C. and KHUSH, G.S., 1982. Heterosis breeding in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* **63**: 373-380.

WASANO, K. 1982. Usefulness of *japonica* varieties as breeding material. In *Japan's Role in Tropical Rice Research*. Summary report of Seminar. 27 Sept 1980. Kyushu University Press. Japan. IRRI ed: 27-29.

WU, K. S., GLASZMANN, J. C. and KHUSH, G. S. 1988. Chromosomal location of ten isozyme loci in rice (*Oryza sativa* L.). *Biochem. Genet.* **26**: 311-328.

XU, Y.B. and SHEN Z.T. 1988. Variation in stigma exertion in rice. Receptivity of exerted stigmas. *IRRN* **13** (3): 6-8.

ZEE, S.Y., VERGARA, B.S. and CHU T.M. 1979. Abscission layer in the rice pedicel. *IRRN* **4** (6): 5-6.

ANNEXES

ANNEXE I : Itinéraires culturels des essais G1 et G2

Itinéraire culturel : ESSAI G1

	semis	semis de secours replantage 1	replantage 2	1/9	1/10	1/11	1/12													
notation épilaison								1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
décis		D	D	D																
thimul				T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T					
peltar		P	P	P	P	P	P	P	P											
urée/engrais		E			U			U						U+E						

Itinéraire culturel : ESSAI G2

	semis	replantage	1/6	1/7	1/8	1/9	1/10													
notation épilaison								1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
décis		D	D	D																
thimul				T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T					
peltar		P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P				
urée/engrais		E		U		U				U										

précédents	G1: arachide; G2: brachiaria; G3: riz	
désherbage	MANUEL	
apport hydrique	PAR ASPERSION (min: 25 mm/semaine)	
surfaces	G1: 2000 m ² ; G2: 3750 m ²	
densité	2 plantes/m ²	

TRAITEMENTS PHYTOSANITAIRES		
décis (D)	5 g/l	
peltar (P)	6,7 g/l	et 0,25 l/m ²
thimul (T)	6,7 g/l	

engrais (E)	5 g/m ²	(NPK 10-18-18)
urée (U)	5 g/m ²	

**ANNEXE II : nomenclature des marqueurs enzymatiques
et systèmes de migration adoptés**

enzyme	nomenclature utilisée	nomenclature proposée par MORISHIMA et GLASZMANN (1986)
leucine aminopeptidase	LAP-E	Amp-1
endopeptidase	EP-A	-
catalase	CAT-A	Cat-1
estérase	EST-Ca	Est-9
estérase	EST-B	Est-5
estérase	EST-E	Est-2
6-phosphogluconate déshydrogénase	PGD-A	Pgd-1
phosphoglucose isomérase	PGI-A	Pgi-1
shikimate déshydrogénase	SDH-A	Sdh-1

concordance entre les nomenclatures des loci utilisées dans le texte (d'après SECOND et TROUSLOT, 1980) et celles proposées par MORISHIMA et GLASZMANN, 1986

matériel végétal	SYSTEME A	SYSTEME B
partie non chlorophyllienne de jeunes feuilles en croissance	SDH EST LAP EP	PGD CAT EST
feuilles vertes développées		PGI
germinations *	SDH, EST, LAP, EP	PGD, CAT, EST, PGI

*: les électrophorèses sont réalisées sur de jeunes germinations pour l'estimation du taux d'intercroisement en G2 uniquement

SYSTEME A	tampon gel: Histidine HCl 5mM, NaCl 2,5mM tampon bac: Citrate de Na 0,41M	pH 6,0
SYSTEME B	tampon gel: Histidine HCl 5mM, NaCl 2,5mM tampon bac: Citrate de Na 0,41M	pH 8,0

systèmes de migration et organes prélevés
pour l'analyse électrophorétique

ANNEXE III : NOMBRE DE PANICULES PRODUITES EN UN MOIS (SP4)

Diversité des hybrides et des variétés parentales:

moyennes (m) et écarts-type (s).

analyse de variance: comparaison des moyennes familiales

test de Bartlett d'homogénéité des variances

famille	P1		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	13,0	14,5	31,2	14,02	23,8	14,91
H1	16,6	6,7	27,3	15,10	23,5	15,49
H2	16,4	5,9	22,3	14,28	19,1	11,05
H3	14,2	6,5	31,6	14,25	22,1	13,73
H4	29,6	10,1	35,1	15,69	23,2	14,30
H5	28,9	8,5	37,1	19,56	27,0	16,72
H6	24,1	9,3	37,1	18,02	24,7	15,02
H7	89,8	17	49,1	26,07	31,5	20,69
H8	22,9	11,6	35,5	19,42	18,3	11,67
H9	23,7	7,2	36,0	16,94	22,8	12,27
UL16.6	8,1	0,94				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	5069	9	3090	9	869
CM.rés	90	97,7	610	318	610	223
F		51,91 ***		9,72 ***		3,89 ***

homogénéité des variances intra famille

$X^2 = 23,9 **$

$X^2 = 46,5 ***$

$X^2 = 38,6 ***$

ANNEXE IV : distributions comparées du nombre de graines récoltées par plante ayant fleuri dans chaque famille. en G1 et G2

FAMILLE	G1 (n=1419)				G2 SSD (n=744)				G2 Bulk (n=704)			
	0 gr.	1-10	10-50	>50	0 gr.	1-10	10-50	>50	0 gr.	1-10	10-50	>50
H0	16	64	53	16	24	22	15	17	17	16	27	12
H1	35	52	29	5	22	18	25	17	9	20	28	8
H2	43	38	33	12	19	16	17	21	16	26	27	14
H3	11	62	57	18	13	25	25	20	17	26	17	10
H4	29	66	32	20	40	15	17	20	10	17	23	31
H5	47	69	23	8	20	14	31	20	15	35	18	12
H6	30	57	51	11	18	28	20	16	21	22	20	13
H7	42	58	30	7	25	13	18	17	9	22	18	17
H8	29	67	41	11	15	24	25	16	16	25	23	17
H9	17	44	68	18	19	27	21	12	18	19	16	11
% total	21,1	40,7	29,4	8,9	26,6	25	26,5	21,8	20,1	30,9	29,4	19,6
X^2 (27dl)	76,17 ***				46,45 *				49,36 **			

ANNEXE V : matrices de corrélations chez les parents, les G1 et les G2

	PB1	PB2	PB3	PL1	PL2	PL3	PER1	PER2	PER3	PR23				
HAUT														
PP24														
SP4			0,19											-0,15
SP2														
PR23		-0,23	-0,25	0,22	0,27		0,32	0,88	0,79	1,00				
PER3			-0,18		0,18	0,31	0,23	0,39	1,00					
PER2		-0,31	-0,23	0,23	0,26		0,31	1,00						
PER1	-0,31			0,72	0,19		1,00							
PL3		0,22	0,88		0,21	1,00								
PL2		0,84		0,20	1,00									
PL1	0,45			1,00							SP2	SP4	PP24	HAUT
PB3	0,15	0,25	1,00								HAUT		0,15	1,00
PB2		1,00									PP24	0,38	-0,17	1,00
PB1	1,00										SP4	0,81	1,00	
											SP2	1,00		

corrélations entre les caractères de pérennité, tallage et hauteur en G1

	PB1	PB2	PB3	PL1	PL2	PL3	PER1	PER2	PER3	PR23				
HAUT														
PP24														
SP4														
SP2														
PR23		-0,25	-0,21		0,19	0,19		0,82	0,79	1,00				
PER3			-0,19			0,32		0,29	1,00					
PER2		-0,29	-0,15		0,25			1,00						
PER1				0,82			1,00							
PL3		0,32	0,87	0,71	0,70	1,00								
PL2		0,86	0,31		1,00									
PL1	0,60			1,00							SP2	SP4	PP24	HAUT
PB3		0,39	1,00								HAUT	0,19		1,00
PB2		1,00									PP24	0,44	1,00	
PB1	1,00										SP4	0,82	1,00	
											SP2	1,00		

corrélations entre les caractères de pérennité, tallage et hauteur en G2

	PB1	PB2	PB3	PL1	PL2	PL3	PER1	PER2	PER3	PR23				
HAUT	-0,23		0,23			0,17	0,24							
PP24	0,26		-0,20	0,29		-0,22								-0,16
SP4	-0,21	0,31	0,15	-0,21	0,31	0,15	-0,44	0,33	0,19	0,23				
SP2		0,28		-0,33	0,28	0,17	-0,23		0,16	0,17				
PR23		0,25	0,21		0,53	0,54		0,78	0,80	1,00				
PER3	0,17	0,20			0,27	0,56		0,25	1,00					
PER2		0,19	0,20		0,57	0,29		1,00						
PER1	-0,53			0,35			1,00							
PL3		0,46	0,89		0,50	1,00								
PL2		0,92	0,46		1,00									
PL1	0,60			1,00							SP2	SP4	PP24	HAUT
PB3		0,45	1,00								HAUT			1,00
PB2		1,00									PP24	-0,44	1,00	
PB1	1,00										SP4	0,91	1,00	
											SP2	1,00		

corrélations entre les caractères de pérennité, tallage et hauteur chez les témoins

	EXE	LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA
COPA			0,73	0,36		1,00
DENS		0,38	0,16	0,78	1,00	
RAS		0,65	0,72	1,00		
RAP		0,65	1,00			
LOPA		1,00				
EXE	1,00					

corrélations entre caractères paniculaires:G1 (n=620)

	EXE	LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA
COPA			0,71	0,22	-0,15	1,00
DENS	0,24	0,47	0,21	0,88	1,00	
RAS	0,24	0,62	0,60	1,00		
RAP		0,63	1,00			
LOPA	0,20	1,00				
EXE	1,00					

corrélations entre caractères paniculaires:G2 (n=620)

	EXE	LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA
COPA		-0,37	0,84	0,19	-0,37	1,00
DENS	0,26	0,55		0,79	1,00	
RAS	0,27	0,60	0,54	1,00		
RAP		0,18	1,00			
LOPA	0,17	1,00				
EXE	1,00					

corrélations entre caractères paniculaires: Pi (n=100)

ANNEXE VI : ségrégations des marqueurs de pigmentation

FAM.	phénotype parental PG ST CA CR	G1 (%)						G2 (%)							
		PIG		STIG			CR		PIG		STIG			CA	
		0	1	0	1	2	0	1	0	1	0	1	2	0	1
H0	0 0 0 -	60	40	55	9	36	48	52	73	27	59	10	31	65	35
H1	0 0 0 -	72	28	55	13	32	46	54	85	15	89	4	17	73	27
H2	0 0 0 -	66	34	66	6	28	59	41	81	19	75	16	9	71	29
H3	0 0 0 -	65	35	61	16	23	54	46	79	21	74	5	21	65	35
H4	0 0 0 0	52	48	49	19	32	49	51	73	27	72	10	18	55	45
H5	1 2 1 -	0	100	0	34	66	0	100	36	63	18	27	55	20	80
H6	0 1 1 -	20	80	0	0	100	0	100	63	36	47	12	41	47	53
H7	1 0 1 -	8	92	0	6	94	0	100	38	62	27	3	70	38	62
H8	0 0 0 -	52	58	58	6	36	51	50	87	13	77	2	21	69	31
H9	0 0 0 -	59	41	54	7	39	54	46	78	22	81	7	12	74	26

DESC	phénot. parent. PG ST CA	G3 (%)								
		PIG		STIG			CA			
		0	1	0	1	2	0	1		
B	0 0 0	100	0	100	0	0	100	0		
D	0 0 0	100	0	93	5,2	1,7	100	0		
J	0 0 0	100	0	97	1,7	1,7	100	0		
K	0 0 1	100	0	90	8,3	1,7	28	71,7		
L	0 0 1	100	0	97	3,3	0	43	60,3		
Q	0 0 1	100	0	93	3,4	3,4	19	81		
C	1 1 1	90	10	61	24	14	41	59,2		
P	1 2 1	67	33	61	0	39	24	75,9		
F	1 2 1	58	42	47	12	42	33	66,7		
H	1 2 1	64	36	57	3,6	39	39	60,7		
T	1 2 1	63	37	22	0	78	24	76,1		
O	1 2 1	36	64	27	13	60	40	60		
A	1 2 1	41	59	5,4	7,1	88	25	75		
M	1 2 1	35	65	1,8	1,8	96	0	100		
S	1 2 1	0	100	0	0	100	41	58,6		
I										
E										
N										
R										
G										

	STIG			PIG	
	0	1	2	0	1
CR0	36	0,7	0,3	32	5,6
CR1	0,3	8,6	54	5,6	57
ST0				36	4,2
ST1				1,2	7,9
ST2				6,2	45

liaisons entre les marqueurs
tableau de contingence (G1); exprimé
pour chaque couple de caractère en %

ANNEXE VII : distributions des notes de port et d'ouvertures des panicules dans les descendances G3

DESC	effectifs			%	
	0	1	2	0	1 ou 2
K	0	14	33	0	100
BGLJ	36	142	39	17	83
DEHMN	99	180	7	35	65
FO	55	54	0	50	50
ACP	125	44	6	71	29
IQRST	251	26	0	91	9
TOTAL	566	460	85	51	49

distributions observées des notes d'ouverture des panicules en G3
(0:fermé - 1: intermédiaire - 2: ouvert)

DESC	effectifs			%	
	0	1	2	0	1 ou 2
BILRS	233	22	2	90	10
GJQTM	213	66	17	72	28
ADCFHN	173	94	76	50	50
EKOP	61	77	71	29	71
TOTAL	680	259	166	61	39

distributions des notes de port des panicules à maturité en G3 (PPMA)
(0: dressé - 1: intermédiaire - 2: retombante)

ANNEXE VIII : diversité des hybrides et des variétés parentales:

moyennes (m), écarts-type (s),

analyse de variance: comparaison des moyennes familiales

test de Bartlett d'homogénéité des variances

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	4,6	2,76	5,5	3,81	4,0	4,39
H1	2,4	1,41	7,5	4,22	5,2	4,41
H2	5,1	2,13	6,1	3,72	5,7	4,53
H3	2,8	1,63	5,0	3,24	5,1	3,95
H4	3,3	1,6	3,8	3,12	3,8	4,31
H5	6,1	1,99	6,1	3,99	4,2	4,58
H6	7,4	2,23	8,2	4,37	5,7	4,43
H7	3,9	1,65	4,0	3,59	2,9	3,06
H8	7,4	3,75	7,7	4,13	5,5	4,48
H9	7,1	2,34	6,0	3,73	5,0	4,61
UL16.6	8,9	3,11				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	35,09	9	140	9	53,5
CM.rés	90	6,3	610	14,7	610	18,8
F		5,57 ***		9,52 ***		2,85 **

homogénéité des variances intra famille

var. com. :5,73

var. com. :14,50

var. com. :18,50

EXERTION PANICULAIRE

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	30,3	2,14	29,2	3,76	26,2	4,67
H1	24,1	1,09	24,8	3,30	23,9	3,74
H2	27,1	1,30	25,8	3,78	24,3	4,73
H3	30,5	1,26	29,4	3,57	26,2	5,07
H4	26,4	1,35	26,4	3,85	23,3	7,06
H5	27,1	1,69	26,0	3,92	25,2	4,66
H6	25,5	1,05	26,8	3,71	23,8	4,70
H7	26,4	1,22	25,5	3,68	23,8	4,99
H8	29,3	2,14	29,0	3,73	27,2	5,25
H9	27,3	1,41	27,7	3,65	24,4	5,38
UL16.6	36,9	1,78				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	42,6	9	173,9	9	104,6
CM.rés	90	2,55	610	13,84	610	23,87
F		16,74 ***		12,57 ***		4,38 ***

homogénéité des variances intra famille

var. com. : 2,31

var. com. : 13,63

var. com. : 25,52

LONGUEUR DES PANICULES

ANNEXE VIII (suite)

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	14,73	0,93	12,32	2,41	12,17	2,95
H1	14,60	0,84	10,48	2,16	12,26	3,37
H2	13,53	1,25	9,60	2,05	11,79	3,62
H3	14,73	0,93	11,88	2,20	12,41	2,82
H4	11,43	0,93	11,56	2,06	11,41	3,86
H5	12,67	1,02	10,21	1,99	11,92	3,04
H6	15,47	0,93	11,37	2,44	11,96	3,74
H7	8,83	0,48	8,67	1,71	10,67	3,55
H8	12,77	1,09	10,84	2,14	12,63	3,82
H9	12,13	0,79	11,58	2,07	11,79	3,28
UL16.6	11,83	0,52				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	39,54	9	74,59	9	19,11
CM.rés	90	0,98	610	4,62	610	11,92
F		40,3 ***		16,14 ***		1,60 NS

homogénéité des variances intra famille

var. com. : 0,89

var. com. : 4,55

var. com. : 11,74

NOMBRE DE RAMIFICATIONS PRIMAIRES PAR PANICULE

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	39,03	4,54	33,44	8,69	30,23	14,08
H1	27,25	4,09	25,54	9,40	26,63	14,99
H2	42,43	6,74	26,70	9,93	26,53	15,77
H3	38,43	7,43	31,66	9,22	32,47	15,71
H4	28,76	5,84	28,03	9,11	27,88	16,91
H5	32,00	5,00	27,19	10,96	28,31	16,99
H6	33,97	4,71	31,49	10,35	29,82	21,72
H7	22,97	2,31	22,90	7,70	23,08	16,28
H8	42,53	8,32	32,14	9,81	34,57	16,63
H9	25,30	3,89	29,24	7,84	26,25	14,65
UL16.6	36,70	3,51				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	508,8	9	697,9	9	684,6
CM.rés	90	34,35	610	88,96	610	276,5
F		14,82 ***		7,84 ***		2,48 **

homogénéité des variances intra famille

X2 = 18,67 *

var. com. : 87,67

X2 = 17,18 *

NOMBRE DE RAMIFICATIONS SECONDAIRES PAR PANICULE

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	2,65	0,26	2,71	0,49	2,44	0,96
H1	1,86	0,21	2,42	0,74	2,15	0,97
H2	3,14	0,46	2,75	0,74	2,24	1,17
H3	2,59	0,38	2,65	0,54	2,60	1,07
H4	2,50	0,37	2,63	0,66	2,30	0,93
H5	2,52	0,33	2,59	0,70	2,29	1,15
H6	2,19	0,27	2,76	0,67	2,36	1,25
H7	2,61	0,30	2,60	0,56	2,07	0,98
H8	3,33	0,57	2,95	0,66	2,73	1,10
H9	2,08	0,24	2,52	0,48	2,14	0,87
UL16.6	3,11	0,26				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	2,001	9	1,29	9	2,71
CM.rés	90	0,139	610	0,41	610	1,12
F		14,38 ***		3,17 ***		2,41 *

homogénéité des variances intra famille

var. com. : 0,126

X² =27,6**

var. com. : 1,107

DENSITE PANICULAIRE

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	0,49	0,026	0,42	0,07	0,47	0,099
H1	0,61	0,033	0,42	0,06	0,52	0,117
H2	0,50	0,045	0,37	0,07	0,49	0,121
H3	0,48	0,020	0,40	0,06	0,48	0,113
H4	0,44	0,046	0,40	0,06	0,49	0,106
H5	0,47	0,050	0,39	0,06	0,48	0,097
H6	0,61	0,045	0,43	0,07	0,50	0,104
H7	0,34	0,019	0,34	0,05	0,44	0,098
H8	0,44	0,048	0,37	0,06	0,46	0,100
H9	0,45	0,024	0,42	0,06	0,48	0,097
UL16.6	0,32	0,022				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	0,065	9	0,047	9	0,024
CM.rés	90	0,002	610	0,004	610	0,011
F		41,65 ***		11,9 ***		2,16 *

homogénéité des variances intra famille

X² =20,11*

var. com. :0,0038

var. com.:0,0111

COMPACTE PANICULAIRE

ANNEXE VIII (suite)

famille	Pi		G1		G2	
	m	s	m	s	m	s
H0	82,0	7,14	87,7	12,37	78,6	16,37
H1	81,0	6,63	81,0	13,10	77,5	14,67
H2	93,0	6,4	76,5	11,83	73,6	17,60
H3	84,0	4,36	87,0	10,57	80,9	14,16
H4	83,0	7,48	80,6	12,72	78,4	15,23
H5	78,5	6,34	82,5	13,55	77,3	14,99
H6	92,5	7,16	87,7	13,16	75,9	15,41
H7	83,5	8,08	75,2	13,76	77,0	16,86
H8	94,0	4,36	83,4	12,24	82,7	16,45
H9	88,0	8,42	84,9	12,39	77,4	16,13
UL16.6	105,0	5,22				

différences entre familles

ANOVA	dl		dl		dl	
CM.fam	9	306	9	1213	9	392
CM.rés	90	50,8	610	161	610	254
F		6,02 ***		7,52 ***		1,54 NS

homogénéité des variances intra famille

var. com. :46,24

var. com. :158,95

var. com. :250,69

HAUTEUR

famille	Parents		G1				G2			
	m	s	m	s	min	max	m	s	min	max
H0	103,3	2,21	104,3	8,16	90	146	113,3	13,03	82	>150
H1	95,6	2,95	109,9	7,83	97	146	111,4	12,34	89	>150
H2	83,7	5,17	98,4	8,20	76	139	103,1	16,35	68	>150
H3	99,1	3,38	106,3	7,14	90	146	111,9	12,10	89	>150
H4	96,3	2,21	108,9	7,24	83	153	113,8	13,69	61	>150
H5	98,4	2,95	107,6	7,25	90	153	114,0	13,15	96	>150
H6	94,2	3,62	102,7	7,15	90	139	110,9	12,39	82	>150
H7	102,6	2,95	113,5	7,93	97	160	118,2	14,76	96	>150
H8	95,6	5,52	99,0	7,65	90	132	113,5	14,10	75	>150
H9	108,2	3,62	104,2	7,60	90	153	115,0	11,49	89	>150

différences entre familles

ANOVA	dl		ANOVA	dl		ANOVA	dl	
CM.fam	9	430,1	CM.fam	9	1399	CM.fam	9	943
CM.rés	90	13,1	CM.rés	610	58,1	CM.rés	610	180
F		32,92 ***	F		24,1 ***	F		5,24 ***

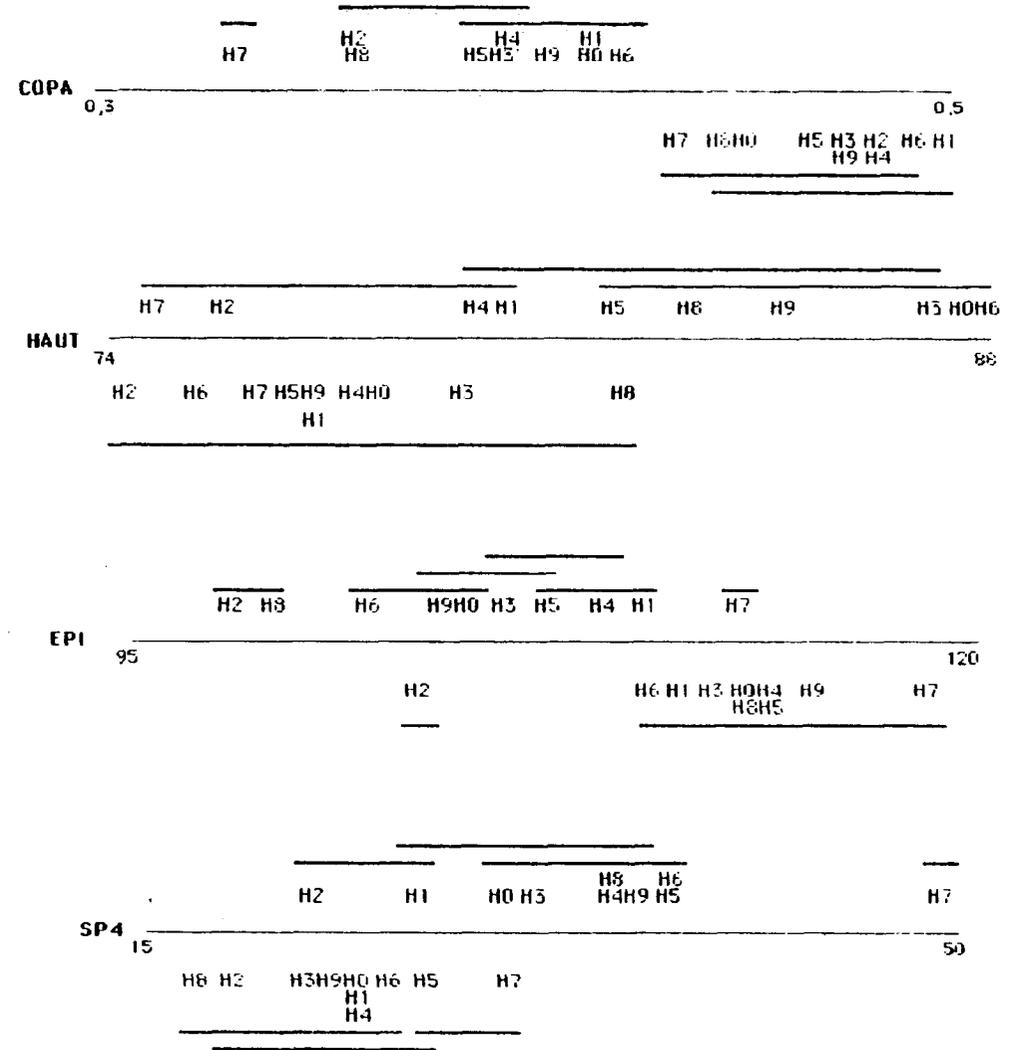
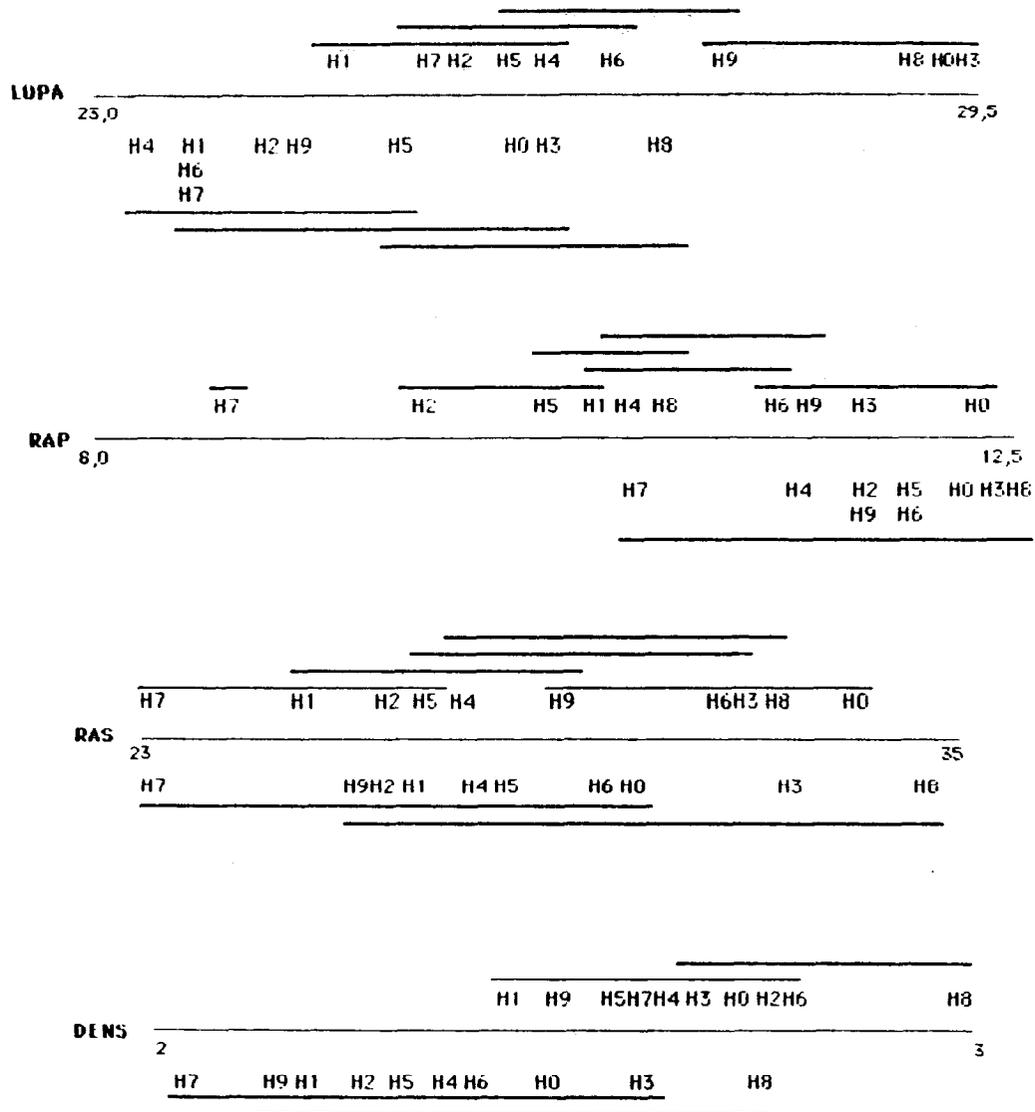
homogénéité des variances intra famille

var. commune: 11,88

var. commune:57,29

var. commune: 177,26

PRECOCITE (en nombre de jours après le semis)



ANNEXE VIII (suite):

**comparaisons multiples des moyennes familiales en G1 (en haut) et G2 (en bas);
test de Newmann et Keuls (seuil 5%)**

ANNEXE IX : description morphologique des descendance G3 et des témoins de l'essai
 moyennes (m) et écarts-types (s)
 seuil de signification du test d'homogénéité des variances (test de Hartley)
 Analyse de variance: comparaison des moyennes des descendance
 (à partir de l'échantillon limité à la moyenne des 2 meilleures lignes de l'essai, n=18)

DESC	EXE		LOPA		RAP		RAS		DENS		COPA		NIE	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
A	6,7	3,40	26,7	2,93	10,3	1,49	10,9	3,3	1,06	0,34	0,387	0,042	145	47,2
B	3,8	3,88	21,0	2,96	12,19	1,96	22,3	6,3	1,83	0,39	0,584	0,069	135	37,1
C	5,8	2,72	23,9	2,75	9,5	1,17	16,9	8,9	1,76	0,85	0,402	0,052	131	33,9
D	4,2	2,21	23,7	3,50	9,4	2,99	20,1	6,2	2,14	0,33	0,391	0,087	110	37,2
E	5,2	4,93	24,1	3,55	9,5	2,87	26,5	7,6	2,89	0,82	0,396	0,111	143	41,9
F	7,2	3,22	20,4	2,88	7,7	1,93	18,3	6,0	2,35	0,51	0,376	0,087	116	40,4
G	7,6	4,25	25,9	3,33	11,9	2,15	65,2	23,4	5,45	1,43	0,460	0,068	324	134,7
H	6,0	2,81	21,3	2,87	10,9	2,77	14,1	9,7	1,22	0,63	0,509	0,086	115	44,4
I	3,2	2,65	34,4	3,52	14,26	2,62	21,5	9,4	1,48	0,48	0,416	0,068	147	30,7
J	3,0	2,73	27,1	3,10	10,35	2,09	24,0	6,3	2,40	0,70	0,379	0,047	142	44,9
K	12,7	5,11	28,7	2,86	9,9	1,54	38,4	9,0	3,98	1,06	0,345	0,050	207	46,4
L	8,2	3,68	21,9	1,93	10,5	1,63	24,5	6,1	2,31	0,34	0,483	0,077	142	32,7
M	10,7	5,00	25,5	2,08	13,1	2,56	33,2	9,3	2,53	0,62	0,515	0,085	183	55,6
N	15,3	3,29	25,8	3,55	13,1	1,68	33,2	7,4	2,51	0,33	0,517	0,084	173	35,9
O	15,1	5,31	28,4	4,51	13,4	3,05	34,4	12,1	2,53	0,50	0,474	0,095	176	72,8
P	6,8	3,00	23,1	2,64	9,7	2,21	19,8	7,2	1,99	0,46	0,419	0,076	125	33,8
Q	5,2	2,23	19,8	3,04	7,8	2,53	15,6	7,7	1,97	0,69	0,383	0,070	97	40,2
R	6,3	3,95	25,3	3,85	12,8	1,13	11,6	4,0	0,91	0,32	0,521	0,101	100	12,9
S	3,0	2,73	20,8	3,49	8,9	2,14	24,4	5,8	2,81	0,54	0,429	0,081	113	33,3
T	4,7	2,56	24,2	2,15	11,5	1,86	43,0	10,5	3,75	0,80	0,474	0,051	221	61,7
moyenne globale														
	7,0	5,11	24,6	4,63	10,85	2,87	25,9	15,5	2,40	1,23	0,440	0,099	153	72,83

homogénéité des variances (test de Hartley)

H	NS	NS	*	***	***	*	***

ANOVA

	CMF	248	220	64,5	2927	20,33	0,073	49928
CMR	13,8	10,4	5,1	90,6	0,47	0,006	2825,9	
F	17,9	***	21,1	***	12,7	***	32,31	***
							43,1	***
							11,85	***
							17,7	***

valeurs des témoins

	P0	5,4	0,98	27,2	2,23	11,31	1,51	25,9	4,8	2,29	0,28	0,41	0,035	149	31,8
P8	10,9	1,61	26,7	1,48	12	1,36	37,8	5,92	3,17	0,46	0,45	0,038	190	27,3	
P9	9,8	1,14	26,2	0,65	11,6	0,8	24,4	2,85	2,09	0,16	0,44	0,03	139	16,2	
P7	4,7	1,36	23,8	1,09	7,25	0,67	13,9	1,43	1,93	0,17	0,31	0,035	92	9,2	

homogénéité des variances (test de Hartley)

H	NS	***	*	***	***	NS	***

ANOVA

	CMF	171	40,8	88,56	1718	5,47	0,081	29106
CMR	1,77	2,33	1,39	18,1	0,09	0,0012	556	
F	96,5	***	17,5	***	63,8	***	95,04	***
							59,7	***
							64,4	***
							52,27	***

ANNEXE IX (suite)

DESC	EPI		H60		HAUT		LOFP		LAFP		T60		SP4	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
A	103,3	8,5	25,5	5,2	93,8	14,4	49,7	9,0	1,55	0,254	3,39	2,11	7,0	2,40
B	106,7	11,9	15,5	2,4	66,1	10,8	30,6	7,0	1,55	0,243	4,89	2,78	7,0	3,05
C	100,9	9,0	18,6	3,1	67,7	9,2	36,3	8,0	1,63	0,208	4,11	1,91	7,1	3,47
D	90,8	28,0	40,2	16,2	77,1	19,3	43,7	16,4	1,70	0,380	3,22	1,27	5,8	2,53
E	99,4	10,8	22,4	2,5	74,1	13,7	35,1	7,1	1,54	0,236	7,78	3,49	17,4	10,55
F	74,5	14,0	41,7	12,7	70,3	14,0	36,3	7,6	1,66	0,267	1,67	0,82	3,2	2,30
G	94,7	6,7	26,6	3,4	86,1	11,4	56,9	12,5	1,58	0,289	5,78	2,46	10,7	3,65
H	83,1	10,6	27,8	11,8	71,6	12,5	31,0	8,3	1,73	0,247	3,33	1,11	7,3	2,92
I	124,7	14,4	20,2	5,0	93,4	15,3	55,3	10,9	1,67	0,318	4,83	2,75	10,0	5,86
J	105,2	12,5	22,3	3,9	85,9	12,6	39,4	7,4	1,74	0,234	4,33	3,27	8,6	6,20
K	97,1	9,8	24,8	3,6	93,5	13,7	50,5	13,5	1,91	0,227	4,50	2,73	7,4	4,36
L	110,7	14,8	26,3	4,9	89,6	7,3	39,9	10,2	1,19	0,190	5,00	2,92	6,8	2,52
M	101,3	11,7	28,7	4,5	82,1	8,6	47,5	11,1	2,47	0,326	2,39	1,53	5,6	2,79
N	96,7	9,6	25,5	3,7	89,8	14,8	48,8	11,1	1,99	0,326	3,11	2,45	6,3	3,19
O	107,6	14,7	28,7	3,1	116,5	16,6	45,9	12,1	1,96	0,250	1,61	0,59	6,2	3,00
P	104,8	9,7	25,3	2,5	83,2	10,1	35,8	8,1	1,71	0,260	6,16	3,56	13,1	4,79
Q	70,6	14,1	34,7	11,9	55,1	9,9	31,2	6,6	1,47	0,242	5,17	2,67	5,3	1,79
R	119,2	13,9	17,6	2,2	86,7	9,3	44,1	7,4	1,22	0,229	9,05	3,85	16,5	5,03
S	112,6	15,0	18,7	3,2	73,2	11,8	30,5	9,3	1,65	0,263	3,56	1,92	8,0	5,33
T	106,4	10,0	25,0	5,1	88,0	13,0	44,5	8,0	1,80	0,277	4,33	2,69	8,1	3,35

moyenne globale

100,5	18,5	25,8	9,57	82,2	18,2	41,6	12,77	1,69	0,378	4,41	3,09	8,37	5,64
-------	------	------	------	------	------	------	-------	------	-------	------	------	------	------

homogénéité des variances (test de Hartley)

H	***	***	*	*	NS	***	***
---	-----	-----	---	---	----	-----	-----

ANOVA

CMF	3208	846	3210	1227	1,36	61,4	235							
CMR	184,6	49,6	172	104	0,08	6,68	20,6							
F	17,38	***	17,1	***	18,7	***	11,8	***	17,9	***	9,19	***	11,4	***

valeurs. des témoins

P0	94,3	4	27,5	2,2	76,1	3,9	37,4	4,6	2,23	0,159	1,67	0,58	4,3	1,91
P8	84,2	2,2	30,1	3,5	91,3	6,9	45,2	5,3	2,28	0,134	5,05	1,78	6,8	2,79
P9	99,8	3,9	28	1,9	87,4	8,9	34,8	3,9	2,23	0,203	2,33	0,67	4,9	1,18
P7	109,5	6,3	15,9	1,9	80,9	4,6	38,1	3,5	1,4	0,116	9,55	2,29	17,4	5,03

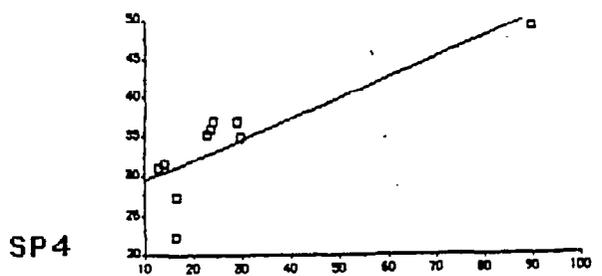
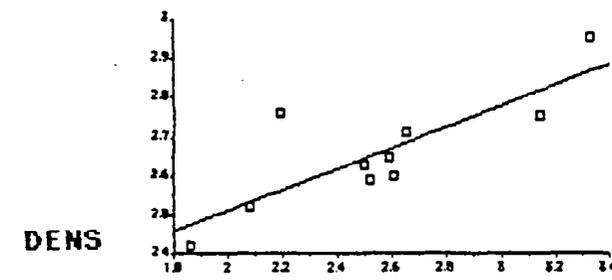
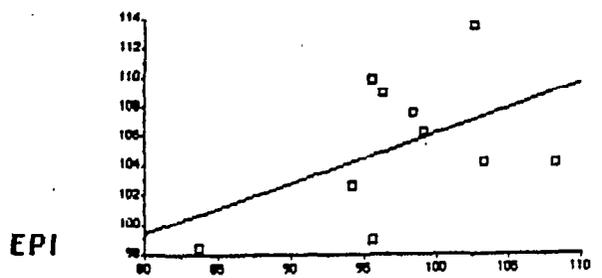
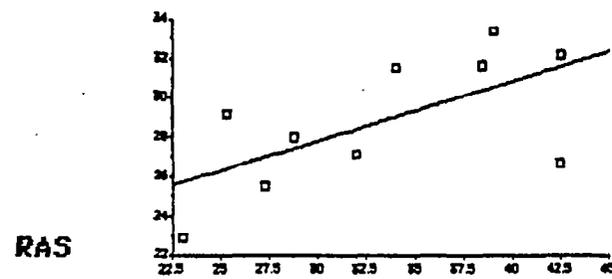
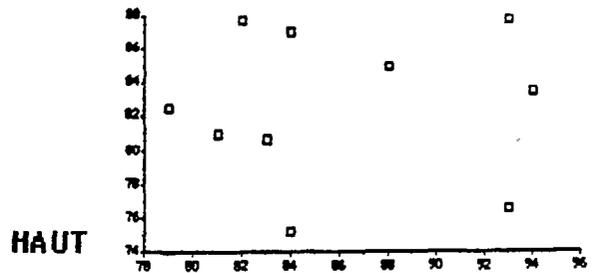
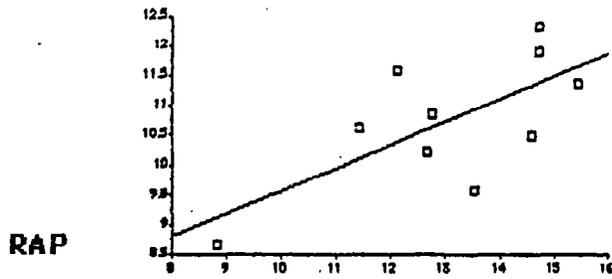
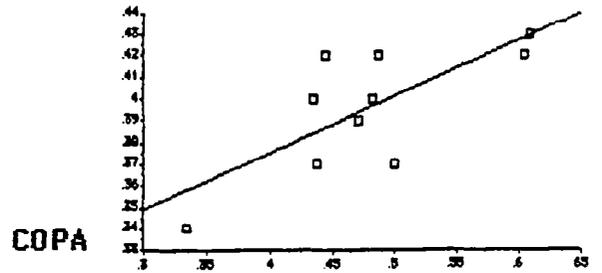
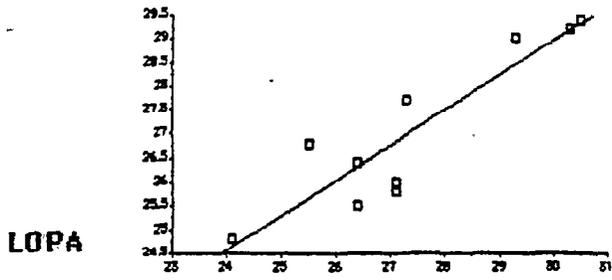
homogénéité des variances (test de Hartley)

H	***	NS	**	NS	NS	***	***
---	-----	----	----	----	----	-----	-----

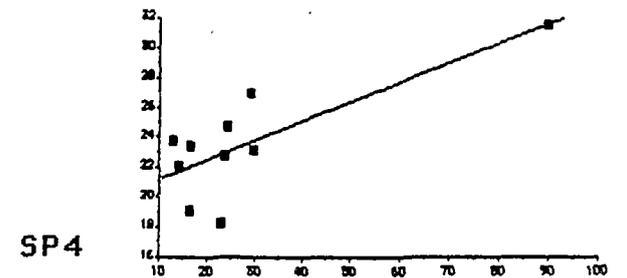
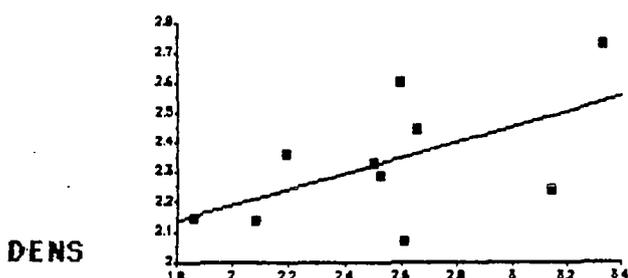
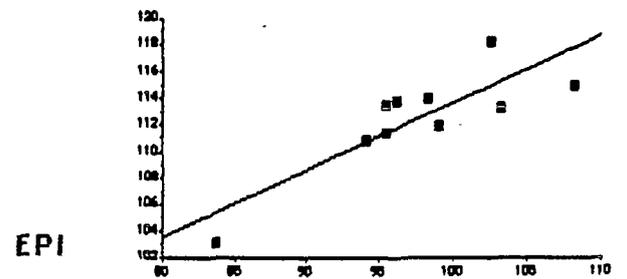
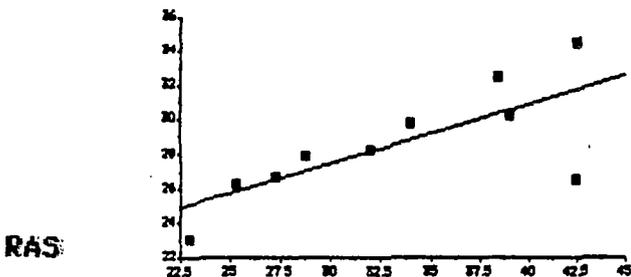
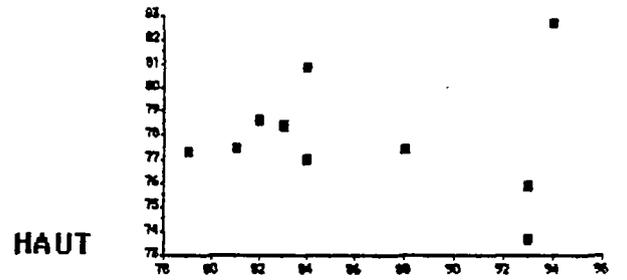
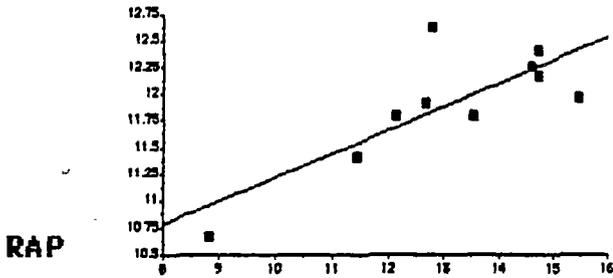
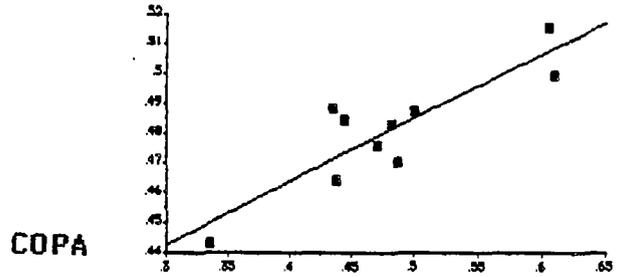
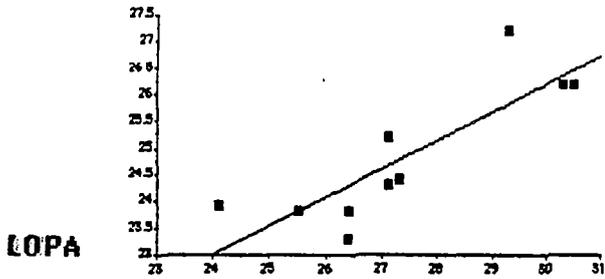
ANOVA

CMF	2006	739	819	357	3,27	231	671							
CMR	20,2	6,5	43,1	20,5	0,03	2,54	10,1							
F	99,2	***	114	***	19	***	17,5	***	126	***	90,6	***	66,3	***

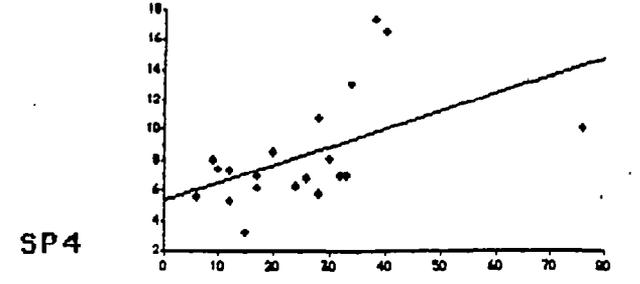
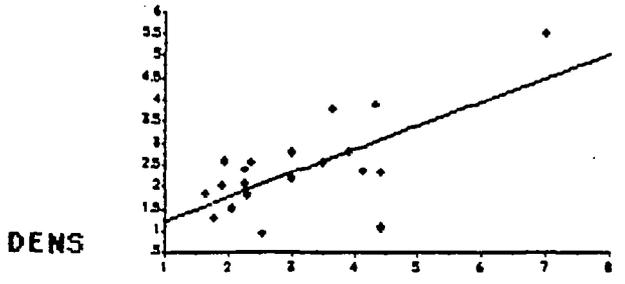
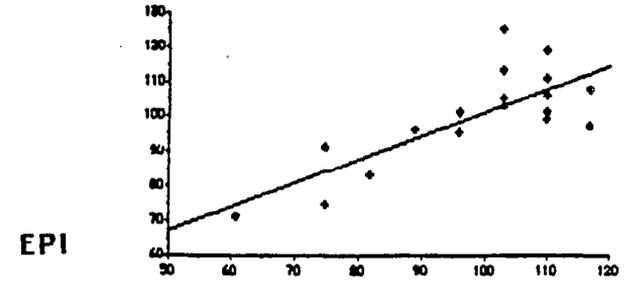
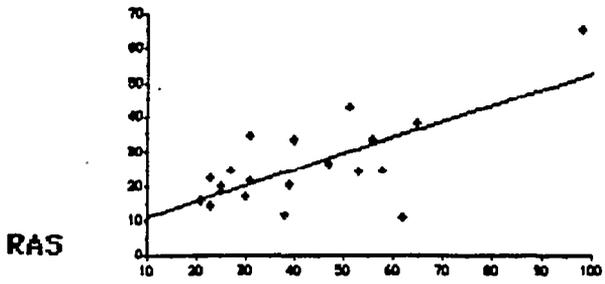
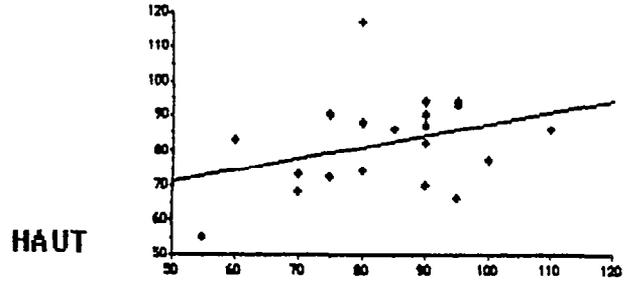
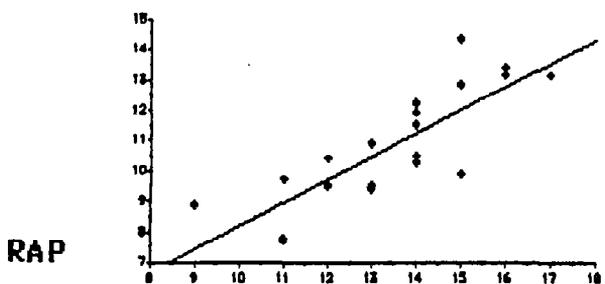
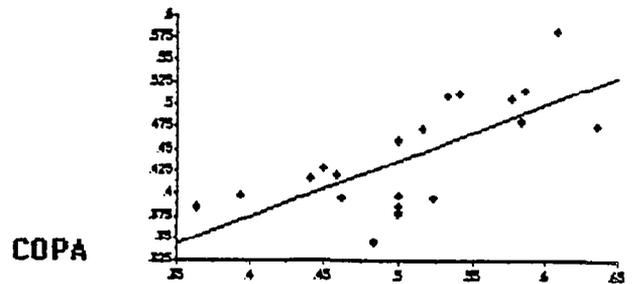
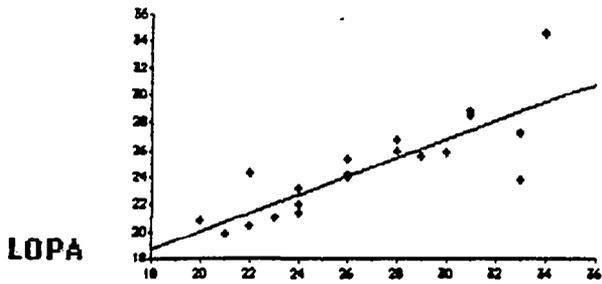
ANNEXE X : régressions parents O.sativa - descendants G1



ANNEXE XI : régressions parents O.sativa - descendants G2



ANNEXE XII : régressions parents G2 - descendants G3



ANNEXE XIII : description des moyennes et écart-types observés en Bulk

FAM	LOPA		RAP		RAS		DENS		COPA		HAUT		EPI		SP4	
	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s
H0	24,03	3,97	10,78	2,71	24,18	13,20	2,18	0,93	0,45	0,09	69,60	14,09	9,39	1,72	14,76	9,97
H1	22,09	5,06	12,08	3,36	24,55	15,47	1,95	1,01	0,56	0,15	71,13	15,87	9,05	1,81	18,18	11,42
H2	25,00	4,35	12,15	3,33	26,64	13,20	2,20	0,99	0,48	0,10	74,11	14,47	8,19	2,62	12,97	6,94
H3	25,14	4,58	11,70	3,16	24,44	12,85	2,04	0,90	0,46	0,08	71,53	12,91	9,08	1,74	14,53	10,08
H4	23,33	4,25	10,69	2,87	24,72	12,79	2,30	0,96	0,46	0,09	75,16	15,42	8,55	1,47	19,48	11,03
H5	23,40	3,77	10,90	2,68	26,69	13,10	2,42	1,01	0,47	0,09	71,37	13,95	9,58	1,51	16,81	10,22
H6	24,03	4,53	11,71	3,61	27,10	13,92	2,29	0,90	0,49	0,12	71,13	12,39	9,02	1,76	15,32	11,24
H7	23,93	4,58	10,46	2,99	22,66	12,48	2,09	0,79	0,44	0,09	73,95	13,97	9,66	1,58	22,69	13,44
H8	24,41	4,22	10,10	2,68	23,72	10,77	2,31	0,87	0,41	0,09	67,34	11,87	8,66	1,57	19,16	12,37
H9	22,48	3,88	11,00	3,00	23,38	14,92	2,04	1,00	0,49	0,11	70,48	14,50	9,73	1,51	15,76	12,22
TOTAL	23,78	4,43	11,16	3,12	24,81	13,40	2,18	0,95	0,47	0,11	71,58	14,17	9,09	1,82	16,97	11,36

homogénéité des variances intra familiales

18,83	9,34	177,9	0,88	***	196,2	***	***
-------	------	-------	------	-----	-------	-----	-----

niveau de signification du test ou variance commune

ANNEXE XIV : détermination du génotype d'UL16.6 pour les loci PGI-A et PGI-B

à partir: a: d'autofécondation d'UL16.6

b: d'hybrides entre UL16.6 et une plante PGI-A8A8 PGI-B1B1

c: des hybrides G1 entre UL16.6 et des variétés PGI-A2A2 PGI-B1B1

ZYMOGRAMMES A1B1 A1B1B3 B1B3 A1B3 B1 B3

généotypes	A1A8 B3B3	-	1/2	1/4	1/4	-	-
présumés	A1A8 B1B3	3/16	1/2	3/16	1/16	1/16	-
d'UL16.6	A1A10 B1B1	1/4	1/2	1/4	-	-	-
	A1A10 B1B3	1/16	1/16	3/16	3/16	-	1/16

effectifs observés	5	4	2	-	-	-	-
--------------------	---	---	---	---	---	---	---

a: fréquences phénotypiques attendues chez les descendants en autofécondation d'UL16.6 suivant le génotype présumé de la plante

ZYMOGRAMMES A1B1 A1B1B3 B1B3 A1B3 B1 B3

généotypes	A1A8 B3B3	-	3/4	1/4	-	-	-
présumés	A1A8 B1B3	1/4	1/4	1/4	-	1/4	-
d'UL16.6	A1A10 B1B1	1/2	-	1/2	-	-	-
	A1A10 B1B3	1/4	1/4	1/2	-	-	-

effectifs observés	5	-	8	-	-	-	-
--------------------	---	---	---	---	---	---	---

b: fréquences phénotypiques attendues chez les hybrides entre UL16.6 et CL7.3 (PGI- A8A8 B1B1) suivant le génotype présumé d'UL16.6

ZYMOGRAMMES A1A2B1 A1A2B1B3 A2B1B3 A2B1

généotypes	A1A8 B3B3	-	1/2	1/2	-
présumés	A1A8 B1B3	1/4	1/4	1/4	1/4
d'UL16.6	A1A10 B1B1	1/2	-	1/2	-
	A1A10 B1B3	1/4	1/4	1/2	-

effectifs observés	105	-	75	-	-
--------------------	-----	---	----	---	---

c: fréquences phénotypiques attendues chez les hybrides G1 suivant le génotype présumé d'UL16.6

ANNEXE XV : fréquences alléliques observées en G2

LOCUS	allèles	FREQUENCES OBSERVEES					fr. obs. pop. tot.	FREQUENCES ATTENDUES						
		groupes d'hybrides						fr. att. pop. tot.	par groupes d'hybrides					
		H0+3	H2+4	H6+8	H5+9	H7			FAM i	AF	PAN	FAM j	AF	PAN
EST-Ca	1	0,44	0,44	0,41	0,45	0,43	0,435	0,50						
	2	0,56	0,56	0,59	0,55	0,57	0,565							
	X2	NS	NS	NS	NS	NS	*							
EST-B	1	0,77	0,72	0,72	0,77	0,74	0,740	0,75						
	5	0,23	0,28	0,28	0,23	0,26	0,260							
	X2	NS	NS	NS	NS	NS	NS							
LAP-E	1	0,88	0,85	0,86	0,86	0,58	0,830	0,70	E1E1	0,750	0,725	E2E2	0,250	0,475
	5	0,12	0,15	0,14	0,14	0,12	0,140			0,250	0,250		0,250	0,250
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,030			0,000	0,025		0,500	0,275
	X2 (AF)	*	NS	*	NS	**	**							
	X2 (PAN)	**	*	**	*	NS								
SDH-A	1	0,17	0,22	0,18	0,18	0,21	0,195	0,25						
	2	0,27	0,24	0,31	0,38	0,22	0,288							
	3	0,56	0,53	0,51	0,43	0,58	0,517							
	X2	NS	NS	NS	*	NS	*							
EP-A	4	0,80	0,85	0,86	0,86	0,79	0,837	0,75						
	2	0,20	0,15	0,14	0,14	0,21	0,163							
	X2	NS	*	*	*	NS	***							
PGD-A	1	0,54	0,60	0,57	0,28	0,38	0,496	0,60	A1A1	0,750	0,675	A3A3	0,250	0,425
	2	0,37	0,34	0,33	0,32	0,21	0,326			0,250	0,250		0,250	0,250
	3	0,09	0,06	0,09	0,40	0,41	0,178			0,000	0,075		0,500	0,325
	X2 (AF)	***	***	***	NS	NS	***							
	X2 (PAN)	*	NS	NS	*	**								
PGI-A	2	0,48	-	-	-	0,53	0,508	0,50						
	1	0,35	-	-	-	0,27	0,306							
	10	0,17	-	-	-	0,20	0,186							
	X2	NS	-	-	-	NS	NS							
CAT-A	1	0,57	0,92	0,52	0,91	0,92	0,767	0,80	A1A1	1,000	0,900	A2A2	0,500	0,650
	2	0,43	0,08	0,48	0,09	0,08	0,232			0,000	0,100		0,500	0,350
	X2 (AF)	NS	***	NS	***	***	NS							
	X2 (PAN)	NS	NS	*	NS	NS								

a :: fréquences alléliques observées en SSD

tests d'ajustement aux fréquences attendues en autofécondation (AF) et en panmixie (PAN)
pour chaque groupe d'hybrides et pour la population totale

ANNEXE XV (suite)

LOCUS	allèles	FREQUENCES OBSERVEES					
		groupes d'hybrides					fr. obs.
		H0+3	H2+4	H6+8	H5+9	H7	pop. tot.
EST-Ca	1	0,47	0,55	0,46	0,41	0,56	0,488
	2	0,53	0,45	0,54	0,59	0,44	0,512
	X2	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EST-B	1	0,69	0,71	0,74	0,88	0,86	0,780
	5	0,31	0,29	0,26	0,12	0,14	0,220
	X2	NS	NS	NS	NS	NS	NS
LAP-E	1	0,83	0,87	0,88	0,83	0,49	0,820
	5	0,17	0,12	0,11	0,17	0,11	0,140
	2	0,00	0,01	0,01	0,00	0,40	0,040
	X2 (AF)	*	NS	*	NS	**	**
	X2 (PAN)	**	*	**	*	NS	
SDH-A	1	0,27	0,19	0,31	0,17	0,22	0,230
	2	0,22	0,28	0,19	0,32	0,23	0,250
	3	0,51	0,53	0,50	0,51	0,55	0,520
	X2	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EP-A	4	0,80	0,87	0,89	0,87	0,89	0,865
	2	0,20	0,13	0,11	0,13	0,11	0,135
	X2	NS	*	*	*	*	***
PGD-A	1	0,51	0,56	0,63	0,18	0,29	0,462
	2	0,40	0,38	0,28	0,41	0,28	0,362
	3	0,09	0,06	0,08	0,41	0,43	0,176
	X2 (AF)	***	***	***	NS	NS	***
	X2 (PAN)	*	NS	NS	*	**	
PGI-A	2	0,66	-	-	-	0,53	0,590
	1	0,28	-	-	-	0,35	0,320
	10	0,06	-	-	-	0,12	0,090
	X2	***	-	-	-	**	***
CAT-A	1	0,52	0,94	0,44	0,95	0,94	0,758
	2	0,48	0,06	0,56	0,05	0,06	0,242
	X2 (AF)	NS	***	NS	***	***	NS
	X2 (PAN)	NS	NS	*	NS	NS	

b : fréquences alléliques observées en BULK

ANNEXE XVI : relations entre marqueurs enzymatiques en G3:
descendances étudiées et estimations des distances génétiques
les couples dont le X2 de liaison est significatif sont marqués en gras

	PGI-A	PGD-A	CAT-A	SDH-A	EP-A	LAP-E	EST-E	EST-B
	p	p	p	p	p	p	p	p
EST-Ca	C 0,54 G 0,55 Z 0,50	G 0,50 L 0,35 Z 0,45	Z 0,43	C 0,39 Z 0,52	L 0,54	Z 0,53	G 0,45 L 0,42 Z 0,48	L 0,56 Z 0,47
EST-B	I 0,42 Z 0,45	I 0,54 L 0,38 M * 0,35 Z 0,46	M 0,39 N 0,46 Z 0,43	N 0,34 Z 0,52	I 0,48 L 0,58 N 0,42	I 0,44 Z 0,55	L 0,48 Z 0,43	
EST-E	G 0,54 J 0,50 Z 0,43	G 0,55 L 0,38 Z 0,55	J 0,58 Z 0,60	J 0,58 Z 0,48	J 0,54 L 0,56	Z 0,42		
LAP-E	I 0,50 Z 0,53	I 0,52 Z 0,43	Z 0,55	Z 0,45	I 0,40			
EP-A	I 0,48 J 0,46 Q 0,41	I 0,52 L 0,48 Q 0,48	J ***0,04 N ***0,12	J 0,46 N 0,52				
SDH-A	C 0,54 J 0,54 S 0,39 Z 0,46	Z 0,48	J 0,44 N 0,48 S 0,52 Z 0,42					
CAT-A	J 0,50 S 0,46 Z 0,55	M 0,48 Z 0,42						
PGD-A	G 0,48 I 0,52 Q 0,48 Z 0,53							

ANNEXE XVII : liaison entre marqueurs électrophorétiques et morphologiques

locus	FPOL ^{oo}	NGR	LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA	HAUT	SP4	EPI	ARIS	LOFP	LAFP	COLO	PHE
EST-Ca tot.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS
fam.													0	9	
EST-B tot.	NS	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	***	NS	**	NS	NS	NS	NS
fam.			0;3;4;5;8	4;5;6;8;9	4		2	8			3;5			2	
EST-E tot.	*	NS	NS	*	NS	NS	**	NS	NS	***		**	NS	***	NS
fam.		2;5		4	6	6		4		3		8;9	9	2;3;4;7;8;9	
LAP-E tot.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fam.				2								2;9			
SDH-A tot.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fam.		0	5		6					2	7		7	7	2
EP-A tot.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fam.		9		5;9	5				8		7	2	2;5;7		0;6
PGD-A tot.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fam.			4	6		6		4;5;9	4;6						
CAT-A tot.	NS	NS	*	*	**	**	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fam.			5	5	5	2;6	0	5;6	5	2			7		
PGI-A ^o tot.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fam.												0			

ANNEXE XVII a : liaisons entre marqueurs enzymatiques et caractères morphologiques en G2:

tot. : niveau de signification de l'analyse de variance réalisée sur la totalité des individus (n=294)

(test X2 pour les variables qualitatives)

fam. : familles d'hybrides pour lesquelles une liaison significative a été mise en évidence par un test de X2

^o : l'étude du locus PGI-A porte sur 2 familles (H0 et H7) seulement

^{oo} : la liaison à la fertilité pollinique est étudiée sur un échantillon de 183 plantes, toutes familles confondues

ANNEXE XVII (suite)

	NGR	LOPA	RAP	RAS	DENS	COPA	HAUT	SP4	EPI	ARIS	LOFP	LAFP	COLO
--	-----	------	-----	-----	------	------	------	-----	-----	------	------	------	------

G1

SCe1 (5 loci) (n=84)	NS	*	NS										
-------------------------	----	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----

G2

IJe1 (PGI-A) (n=93)	NS	*	**	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	*
IJe2 (SDH-A) (n=294)	NS	***	NS	NS	NS	*							
SCe2 (3 loci)	NS	NS	NS	NS	NS								

ANNEXE XVII b : relation entre les associations de marqueurs électrophorétiques
et les caractères morphologiques:

niveaux de signification des analyses de variance réalisées sur le facteur "score" en allèles sauvages-cultivé ou indica-japonica