

**APPLICATION DES MARQUEURS MOLECULAIRES ET DE LA CARTOGRAPHIE  
GENETIQUE A L'UTILISATION ET A LA CONSERVATION DES RESSOURCES  
GENETIQUES DE L'ESPECE AFRICAINE DE RIZ CULTIVE,  
*ORYZA GLABERRIMA* STEUD.**

**Ndjondjop M.N. (1), Lorieux M. (1), Séquier J. (1), Fargette D. (2), Reversat G. (3),  
Second G. (1) & Ghesquière A. (1)**

(1) ORSTOM/LRGAPT, Montpellier - (2) CIRAD/LPRC, Montpellier - (3) ORSTOM/LEST, Bondy

**RESUME**

Un projet d'utilisation des ressources génétiques de l'espèce africaine de riz cultivé, *O. glaberrima* Steud. est développé par l'ORSTOM en collaboration avec l'ADRAO en Côte d'Ivoire. Une population issue d'un croisement entre une variété irriguée d'*O. sativa*, IR64, et la variété d'*O. glaberrima* Tog5681 a été développée pour être cartographiée avec des marqueurs moléculaires à base PCR (STS, microsatellites). Cette population servira de point de départ pour réaliser un programme d'introgession systématique qui sera dirigé par des marqueurs moléculaires cartographiés au cours de croisement successifs en utilisant IR64 comme parent récurrent. L'objectif est d'obtenir l'introgession de petits fragments d'*O. glaberrima* dans le même fond génétique d'*O. sativa* sous formes de lignées isogéniques plus propices à l'évaluation de la diversité génétique utile provenant de l'espèce africaine de riz cultivé. Deux caractères modèles ont été choisis pour réaliser leur transfert chez *O. sativa* : la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) et la résistance au nématode *Heterodera sacchari*. Les premiers résultats concernant l'évaluation du polymorphisme entre les parents et la cartographie des marqueurs sur la population de croisement sont présentés et montrent que de fortes distorsions de ségrégation sur le chromosome 6 peuvent rendre compte de l'action d'un gène de stérilité sporo-gamétophytique sur ce chromosome. Néanmoins, l'évaluation de quelques individus de la population de croisement montre que le transfert des caractères cibles est faisable. Grâce à ce projet, l'identification et la caractérisation des barrières reproductives rendent possible la définition de ponts interspécifiques qui permettront de mieux gérer les ressources génétiques d'*O. glaberrima* tant sur le plan de leur utilisation que sur le plan de leur conservation.

**INTRODUCTION**

***O. glaberrima*, une ressource génétique pour l'amélioration variétale du riz**

*O. glaberrima* Steud. est une espèce de riz cultivé dont l'importance économique est limitée à l'Afrique de l'Ouest. Deux agroécotypes principaux sont observés : un type flottant tardif et photosensible cultivé dans les plaines inondables et un type dressé précoce et insensible à la photopériode qui est cultivé en culture pluviale ou en zone de bas-fonds modérément inondée (Bezançon, 1993). L'évaluation de la diversité des riz sauvages et cultivés en Afrique a confirmé clairement qu'*O. glaberrima* a été domestiqué en Afrique de l'Ouest à partir de l'espèce sauvage annuelle *O. breviligulata* A. Chev. et Roehr (= *O. barthii* A. Chev) (Second, 1982), bien longtemps avant l'introduction d'*O. sativa* L. dans cette même région (Portères, 1950). Depuis, l'espèce africaine de riz cultivé a été progressivement remplacée par *O. sativa* à cause de son faible potentiel de production dû à une grande sensibilité à la verse et à l'égrenage spontané. *O. glaberrima* se rencontre encore néanmoins en culture pure dans certaines conditions écologiques marginales (riz flottant au Tchad et au Mali, riziculture de mangrove en Guinée maritime). Les évaluations génétiques d'*O. glaberrima* concordent pour affirmer que sa diversité est faible quelque soit les marqueurs étudiés : isozymes (Second, 1982), RFLP de l'ADN nucléaire (Wang *et al.*, 1991), ou cytoplasmique (Dally et Second, 1990 ; Second et Wang, 1992). Au contraire, la domestication indépendante de deux lignées divergentes d'*O. rufipogon* Griff. a donné naissance chez le riz cultivé

asiatique *O. sativa* à deux grands groupes variétaux *indica* et *japonica* fortement structurés sur le plan génétique et analogues à deux sous-espèces (Second, 1982).

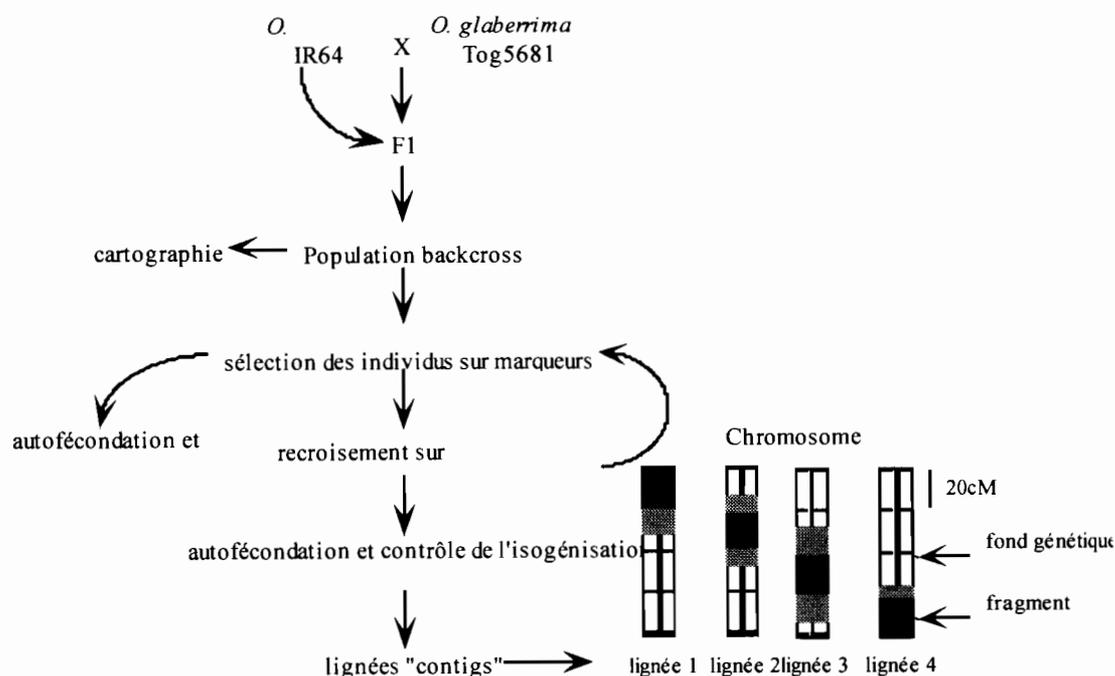
De nombreux échantillons d'*O. glaberrima* ont été collectés par l'ORSTOM-CIRAD, l'ADRAO et l'IITA pendant les 20 dernières années (Ng *et al.*, 1983). Ils ont constitué le matériel de base pour l'étude de la diversité génétique (Second, 1982), des barrières de stérilité F1 avec *O. sativa* (Pham et Bougerol, 1989) et des relations génétiques avec *O. breviligulata* (Bezançon, 1993). L'ADRAO en Côte d'Ivoire détient actuellement une collection de base de plus de 1 300 échantillons issus de ces prospections et qui font l'objet d'une caractérisation et d'une évaluation agronomique permanente (Jones *et al.*, 1994). De nombreuses caractéristiques intéressantes ont été identifiées dans certaines variétés : résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) (Attere et Fatokun, 1983 ; John *et al.*, 1985), résistance aux insectes : *Diopsis thoracica* (Alam, 1988 ; Sauphanor, 1985), résistance à des insectes foreurs des tiges (*Chilo zacconius* et *Maliarpha separata*, B. Vercambre, données non publiées), résistance à la cecidomyie africaine du riz provoquée par *Orseolia oryzivora* (Jones *et al.*, 1994). Egalement, *O. glaberrima* présente des résistances à certaines espèces de nématodes endoparasites (Diomandé, 1984 ; Reversat et Destombes, 1997). Enfin, *O. glaberrima* présente aussi des caractéristiques de développement végétatif précoce qui lui permettent d'être plus compétitif vis à vis des adventices (Jones *et al.*, 1994) et une meilleure adaptation à des stress abiotiques comme la salinité, la sécheresse, la toxicité ferrique (Sano *et al.*, 1984). Malgré toutes ces caractéristiques intéressantes, l'utilisation des riz africains s'est souvent limitée à l'obtention des premières générations de croisement sans jamais réussir à transférer un seul trait favorable chez *O. sativa*. Cette difficulté d'utiliser *O. glaberrima* en amélioration des plantes tient à la très forte stérilité pollinique observée chez les hybrides interspécifiques (Pham et Bougerol, 1989 ; Sano, 1985 ; Oka, 1974). Des modèles génétiques basés sur des systèmes d'interaction sporo-gamétophytique ont été proposés pour rendre compte de la rémanence de la stérilité et de l'accélération du retour vers les types parentaux chez les plantes dérivées d'hybridations inter-spécifiques (Sano, 1985). De fait, l'isolement reproductif entre les deux espèces semble être extrêmement strict et ne permet pas l'observation d'essais d'hybrides spontanés lorsque les deux espèces sont en sympatrie. Récemment, l'ADRAO en Côte d'Ivoire a développé avec succès les techniques d'haplométhode sur des plantes issues de croisement et a obtenu du matériel fixé qui est en cours d'évaluation agronomique (Jones *et al.*, 1996).

### **Les possibilités offertes par les marqueurs moléculaires cartographiés pour contrôler les introgressions à partir d'*O. glaberrima***

La difficulté de réaliser l'introgression des caractères d'*O. glaberrima* peut être réexaminée désormais grâce à de nouveaux moyens méthodologiques. Le développement des marqueurs moléculaires directement issus de l'ADN a permis de construire des cartes de liaisons génétiques très complètes dans le cas du riz (Causse *et al.*, 1994 ; Kurata *et al.*, 1994). Ces cartes constituent maintenant un outil précieux pour étudier les phénomènes de restriction à la recombinaison, de distorsion de ségrégation, et les relations morphologie-viabilité dans les produits d'hybridations entre les deux espèces de riz cultivé. Depuis deux ans, l'ORSTOM a initié avec l'ADRAO un projet d'introgression systématique du génome d'*O. glaberrima*. L'objectif est d'identifier et de suivre à travers un programme de croisement assisté par les marqueurs moléculaires l'introgression de petits fragments d'*O. glaberrima* d'environ 15-20 cM dans un même fond génétique d'*O. sativa*. A terme, il s'agit de construire ces introgressions sous forme de lignées « contigs » où les fragments introgressés se chevauchent pour permettre de représenter la totalité du génome d'*O. glaberrima* (fig.1). Cette approche systématique et non ciblée *a priori* semble appropriée pour :

- i) détecter et cartographier toutes les caractéristiques intéressantes venant d'*O. glaberrima*,
- ii) informer valablement sur les mécanismes et les gènes intervenant dans les barrières de reproduction,
- iii) proposer à terme une nouvelle ressource génétique sous la forme de lignées fixées distribuables à n'importe quelle institution nationale ou internationale de recherche,
- iv) intégrer ce matériel dans un schéma global permettant de mieux gérer les ressources génétiques d'*O. glaberrima* sur le plan de leur utilisation en amélioration des plantes, comme sur le plan de leur conservation. Les premiers résultats concernant le développement de cette stratégie originale sont présentés.

**Figure 1** : Schéma de croisement et concept de construction de lignées isogéniques.



## RESULTATS

### Développement du matériel génétique approprié

La première étape de ce projet a eu comme objectif d'établir une population issue d'un recroisement interspécifique dont la cartographie a permis d'établir une carte de liaison génétique de base et de choisir les individus pour lesquels les recroisements seront poursuivis afin d'initier le processus d'introgression systématique. Pour cela, la variété IR64 qui est une variété irriguée sélectionnée à l'IRRI a été retenue comme parent *O. sativa*. Le choix du parent *O. glaberrima* s'est orienté sur une variété particulière, photosensible, qui présente le grand intérêt de manifester une résistance totale au virus de la panachure jaune du riz (RYMV). Ce choix permettait ainsi d'envisager comment un caractère de résistance pouvait être transféré chez *O. sativa* au delà des barrières reproductives séparant les deux espèces. Plusieurs hybrides interspécifiques ont été obtenus. Ces hybrides sont complètement mâle-stériles et ont été intensivement recroisés avec IR64 comme parent récurrent pour aboutir à une population de taille non limitante (183 individus) et initier la cartographie des marqueurs.

Cette population se caractérise par une très forte stérilité pollinique. Une fraction importante de plantes présente des graines en autofécondation mais celles-ci s'accompagnent dans la majorité des cas d'une détérioration plus ou moins importante de l'albumen. Seules 3 plantes ont donné des descendances de graines normales en autofécondation. Il semble ainsi qu'en plus des phénomènes de stérilité, les barrières reproductives peuvent comporter des termes supplémentaires plus tardifs lorsque les fécondations mettent en jeu l'autopollen des plantes, car les recroisements de deuxième génération avec IR64 donnent des graines normales. Sur le plan morphologique, la population backcross est fortement déviée vers des plantes sensibles à la photopériode, pigmentées avec un type de panicules semblable à celui d'*O. glaberrima*. Tous ces caractères sont fortement associés et permettent d'individualiser un petit groupe de plantes précoces, non pigmentées qui renferme en outre les rares individus fertiles donnant des graines normales en autofécondation.

### Polymorphisme et cartographie des marqueurs moléculaires

Le choix des marqueurs s'est orienté délibérément vers des marqueurs à base PCR qui seuls peuvent être compatibles avec les quantités d'analyses et la rapidité d'exécution requises pour un tel programme. Ces marqueurs sont des STS (Sequences tagged-sites), correspondant à l'amplification de l'ADN entre deux amorces spécifiques déterminées aux extrémités de sondes RFLP cartographiées, et issus d'ADN génomique ou d'ADNc. Ces marqueurs présentent comme les marqueurs RFLP l'avantage d'être locus-spécifiques et codominants. En outre, si les électrophorèses ne permettent pas de séparer les produits d'amplification et d'identifier directement un polymorphisme entre les deux parents, ces produits peuvent être digérés par des enzymes de restriction de l'ADN pour générer de nouvelles bandes et augmenter ainsi la probabilité de distinguer les parents. Une première série de 63 marqueurs STS (Inoue *et al.*, 1994) correspondant à des sondes d'ADN génomique cartographiées sur la carte de liaison intraspécifique (Kurata *et al.*, 1994) a été systématiquement testée sur les parents du croisement. Une deuxième série de 250 STS localisés sur la carte de référence interspécifique (Causse *et al.*, 1994) est en préparation à l'IRRI (Ghareyazie *et al.*, 1993) et une centaine d'entre elles ont pu être également testées sur les parents. Le polymorphisme de longueur de séquence unique (SSLP - Simple Sequence Length Polymorphism) est aussi une autre source de marqueurs particulièrement bien adaptés à ce programme. Ce polymorphisme provient d'un nombre variable de répétitions de courtes séquences nucléotidiques (di, tri ou tétra-nucléotidiques) et les marqueurs microsatellites contenant ces séquences sont très fréquents et largement distribués dans le génome du riz (Panau *et al.*, 1995 ; Wu et Tanksley, 1993). Ils présentent aussi l'avantage d'être codominants et peuvent être amplifiés par leurs amorces PCR-spécifiques. En outre, ces marqueurs manifestent des variations alléliques beaucoup plus élevées que les marqueurs RFLP et RAPD ce qui permet de les utiliser même dans des croisements proches. 120 marqueurs microsatellites ont déjà été identifiés et cartographiés sur le croisement de référence (IR64 x Azucena) (McCouch *et al.*, 1996). Les séquences des amorces d'autres microsatellites cartographiés sont également disponibles (Akagi *et al.*, 1996).

**Tableau 1** : Bilan du polymorphisme observé pour des marqueurs à base PCR (STS et microsatellites) entre les parents du croisement interspécifique (*O. sativa* x *O. glaberrima*).

Origine et nombre de marqueurs testés	Polymorphisme (direct)	Polymorphisme (après digestion)	Marqueurs utilisables en cartographie
65 STS (génomique)	12,3%	33,8	14
90 STS (génomique + cDNA)	6,7%	-	3
20 STS (génomique + cDNA)		35	3
44 microsatellites	88,7%	-	36
Total		-	56

Les premiers résultats concernant l'évaluation du polymorphisme entre les parents sont présentés dans le tableau 1. Compte tenu du temps de divergence et de l'isolement reproductif entre les deux espèces de riz cultivé (Second, 1982), un polymorphisme significativement plus élevé que celui observé par Ghareyazie *et al.* (1993) parmi les variétés d'*O. sativa* était attendu. Néanmoins, le polymorphisme détecté par les STS est faible, même en augmentant la résolution avec des gels d'acrylamide. Le polymorphisme est augmenté légèrement en digérant les produits d'amplification mais seuls un petit nombre de marqueurs de ce type seront utilisables en cartographie. Au contraire, les premières évaluations sur les marqueurs microsatellites montrent un polymorphisme très élevé qui permettra la cartographie d'une majorité d'entre eux. La cartographie des marqueurs a commencé et donne déjà des informations intéressantes sur les phénomènes de distorsion de ségrégation dans cette population. Ainsi, le STS G30 sur le chromosome 6 montre une distorsion extrême en faveur de l'allèle porté par *O. glaberrima* puisque la fréquence de celui-ci est supérieure à 92%. Cette distorsion suggère que, chez les hybrides F1, la stérilité agit au niveau femelle et peut traduire la proximité d'un gène de stérilité sporo-gamétophytique de type « gamete eliminator » chez *O. glaberrima*. Ce gène pourrait correspondre au gène S10 identifié par Sano *et al.* (1994) à proximité immédiate du gène *wx* sur l'extrémité du chromosome 6. En effet, le marqueur G30 est à moins de 10 cM de *wx* sur la carte intraspécifique de Kurata *et al.* (1994). En outre, les rares plantes présentant

l'allèle venant d'*O. sativa* pour le marqueur G30 appartiennent toutes à ce petit groupe de plantes précédemment individualisé sur le plan morphologique.

### **Evaluation de la diversité utile d'*O. glaberrima* en vue de son transfert chez *O. sativa***

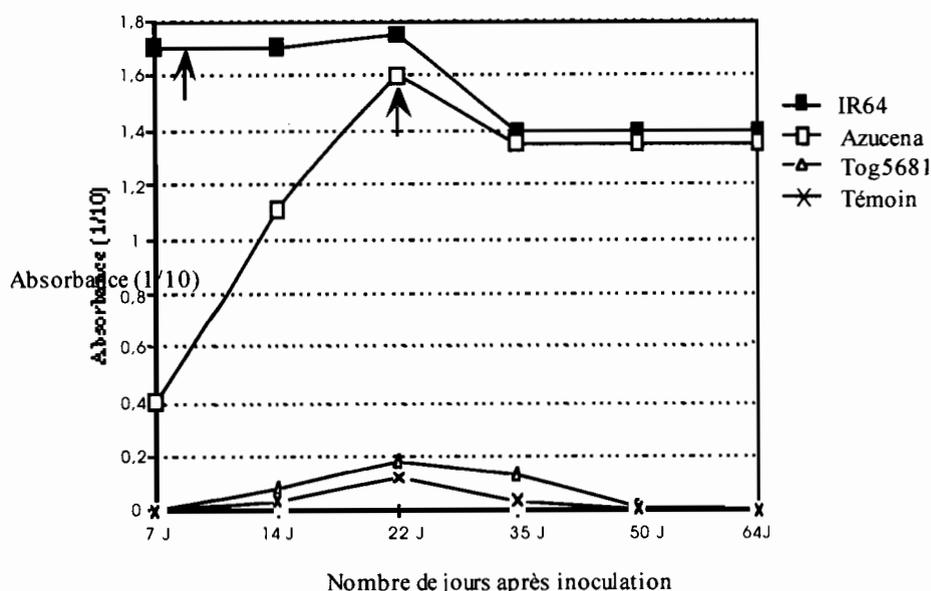
Parallèlement au développement de la population de cartographie, les parents ont été évalués comparativement pour différents caractères comme un préalable à l'évaluation ultérieure des descendances et à la recherche de marqueurs de ces caractères. Deux caractères agronomiques particulièrement importants pour la riziculture africaine ont été étudiés : la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) et la résistance au nématode *Heterodera sacchari*. Etant donné la forte stérilité des plantes issues de croisement et pour éviter la perte des génotypes en cas de forte sensibilité, 20 individus ont été dédoublés à un mois et demi pour être évalués pour la résistance au RYMV. De même, des boutures de noeuds (3 à 5 par individus) ont été prélevées sur 21 plantes âgées de 3 mois et demi pour fournir le matériel nécessaire à l'évaluation de la résistance à *Heterodera sacchari*.

### **Résistance à la panachure jaune du riz causée par le RYMV**

La panachure jaune du riz a été identifiée pour la première fois au Kenya (Bakker, 1971) et s'est rapidement répandue dans l'ensemble du continent africain et à Madagascar où elle est à l'origine de dégâts très importants en riziculture irriguée (Awoderu, 1991). L'agent de cette maladie est un sobemovirus qui est transmis par différentes espèces de coléoptères (*Chrysomelidae* spp.) (Hull, 1988). Le RYMV a un pouvoir infectieux très élevé ; il est présent chez de nombreuses espèces de graminées sauvages y compris l'espèce sauvage de riz *O. longistaminata* A. Chev. & Roehr. et peut être en plus transmis mécaniquement (Thresh, 1991). Dans ces conditions, l'identification et le transfert de résistances naturelles représentent une solution réaliste pour lutter contre ce virus. L'évaluation de la résistance variétale est basée sur des inoculations artificielles à des stades précis à partir de souches de virus de référence multipliées sur des variétés très sensibles (BG90-2). La concentration en virus est ensuite mesurée par des test-Elisa (Clark et Adams, 1977) plus ou moins longtemps après l'inoculation et le contenu en virus peut être confronté avec l'observation des premiers symptômes. Plusieurs variétés d'*O. glaberrima* ont été testées comparativement à deux variétés d'*O. sativa* de référence, IR64 (sensible) et Azucena (résistante).

Lorsque les lignées sont testées très précocement (inoculation 10 jours après semis et test-Elisa 7 jours après inoculation), la concentration virale est très élevée chez IR64 alors qu'elle est faible chez Azucena. Parmi les différentes variétés d'*O. glaberrima* qui ont été testées, seule la variété Tog5681 montre un contenu en virus extrêmement faible même avec une souche originaire du Burkina Faso réputée plus agressive que les autres souches de virus. Le suivi de la concentration virale au cours du temps montre des évolutions très différentes suivant les lignées testées. Chez une variété très sensible comme IR64, le contenu en virus est déjà maximum au 7<sup>e</sup> jour après l'inoculation et les premiers symptômes sont nettement visibles à partir du 10<sup>e</sup> jour. Au contraire, la résistance d'Azucena et des variétés considérées comme résistantes chez *O. sativa* se traduit par une progression plus lente de la concentration virale et une apparition plus tardive des symptômes, associée à un impact plus faible de la maladie sur la floraison et la fertilité (Ghesquière *et al.*, 1997). Dans ces conditions, la variété Tog5681 présente un contenu en virus très faible qui reste stable pendant toute la vie de la plante même longtemps après la floraison et sans jamais montrer de symptômes ni d'effets sur la croissance des plantes inoculées (fig. 2). Ce type de résistance chez *O. glaberrima* qui s'apparente à une quasi « immunité » n'est pas fréquente et seules de rares lignées d'*O. glaberrima* la manifeste (Paul *et al.*, 1995). L'étude de l'hérédité de la résistance au RYMV chez *O. glaberrima* à partir d'une analyse diallèle a montré par ailleurs que cette résistance était de nature récessive avec une forte composante génétique additive (Paul *et al.*, 1995). Des boutures d'hybrides F1 (IR64 x Tog5681) et de 20 individus issus de croisements sur IR64 ont été réalisées et testées suivant des conditions similaires aux parents. Tous les individus testés montrent des concentrations virales très fortes et du même ordre qu'IR64. Les résultats confirment donc bien la nature récessive de la résistance provenant d'*O. glaberrima*. Celle-ci implique vraisemblablement peu de gènes au vu de l'homogénéité de la réponse des plantes issues de croisement.

**Figure 2 :** Evolution de la concentration virale en fonction du temps chez deux lignées témoins d'*O. sativa* et chez la lignée résistante d'*O. glaberrima* Tog5681. La flèche indique l'apparition des premiers symptômes.



### Résistance à *Heterodera sacchari*

Le nématode *Heterodera sacchari* a été décrit pour la première fois comme parasite de la canne à sucre (Luc et Merny, 1963) mais c'est sur le riz pluvial et inondé qu'il a été identifié comme un pathogène très important dans différents pays d'Afrique (Merny, 1970 ; Babatola, 1983a). L'évaluation variétale n'a pas permis d'identifier de variétés résistantes chez *O. sativa* (Babatola, 1983b) ; en revanche, des variétés résistantes à plusieurs souches de ce parasite ont été identifiées chez *O. glaberrima* (Reversat et Destombes, 1997). L'évaluation de la résistance repose sur des inoculations par un inoculum connu de juvéniles fraîchement éclos sur de jeunes plantules cultivées sur milieu stérile dans des microserres ou des tubes individuels qui permettent d'assurer un isolement complet de chaque individu. Au bout de 5 semaines (1ère génération) ou 11 semaines (2ème génération) de contact avec l'inoculum, les kystes visibles sur les racines sont dénombrés et disséqués à l'aide de permanganate de potassium qui provoque leur éclosion (Reversat, 1981). L'évaluation peut être complétée par une mise du système racinaire sous asperseur qui permet de récupérer les juvéniles. La population finale obtenue peut être ainsi comparée avec l'inoculum (population initiale) et permet d'apprécier le coefficient de multiplication du nématode sur l'espèce ou la variété-hôte considérée. L'évaluation d'une collection représentative de riz (43 variétés d'*O. sativa* et 21 d'*O. glaberrima*) montre que toutes les variétés d'*O. sativa* sont très sensibles à *Heterodera sacchari* quelque soit leur origine géographique ou leur type variétal avec des coefficients de multiplication allant de 11 à 25. Au contraire, une proportion importante de variétés d'*O. glaberrima* (70%) est résistante avec un coefficient de multiplication inférieur à 1 (Reversat et Destombes, 1997). Cette résistance chez le riz cultivé africain s'observe également chez son ancêtre sauvage direct *O. breviligulata* puisque 7 souches sur les 9 testées sont résistantes (Reversat et Destombes, 1997). L'étude des lignées d'*O. sativa* et d'*O. glaberrima* impliquées dans les croisements cartographiés a été répétée dans une nouvelle évaluation plus précise impliquant 7 répétitions ; celle-ci a confirmé à nouveau l'absence de kystes visibles sur les différentes lignées d'*O. glaberrima* testées et en particulier sur le parent *O. glaberrima* Tog5681 (tab. 2).

Le test de boutures prélevées sur un échantillonnage de 21 plantes issues du croisement interspécifique montre que certains individus ont un comportement analogue à *O. glaberrima*

suggérant que cette résistance pourrait être dominante. Ces résultats doivent être pris avec prudence car l'hétérogénéité des boutures entraîne un développement plus ou moins tardif des racines qui peut ne plus correspondre avec la période d'infectivité de l'inoculum et induire une classification erronée d'individus dans la classe des plantes résistantes. Néanmoins, la descendance de l'une des rares plantes fertiles a pu être testée suivant le protocole standard sur graines et confirme bien une ségrégation entre des plantes résistantes et sensibles en accord avec un gène de résistance dominant.

**Tableau 2** : Evaluation de la résistance à l'espèce de nématode *Hérodéra sachari* chez *O. sativa*, *O. glaberrima* et des descendance interspécifiques 5 semaines après inoculation.

Lignées ou descendance	Nb d'individus ou génotypes	présence de kystes	population finale de nématodes
<i>O. sativa</i>			
Moroberekan	7	Présence	2 098
IR64	7	Présence	1 644
Azucena	7	Présence	2 186
<i>O. glaberrima</i>			
CG14	7	Absence	1,8
CG20	7	Absence	1,4
SG329	7	Absence	0,3
Tog5673	7	Absence	0,3
Tog5681	7	Absence	0,1
BC1 : (IR64 x Tog5681) x IR64	3	Absence	0
(boutures)	9	Présence	167
1 BC1F2	13	Absence	0
(graines)	4	Présence	221

## DISCUSSION

L'identification des barrières reproductives représente un facteur-clé dans un programme d'introgression avec *O. glaberrima*, car la restauration de la fertilité est indispensable d'une part pour évaluer les descendance interspécifiques vis-à-vis des caractères cibles et d'autre part pour continuer les croisements avec les plantes retenues. Chez le riz, de très nombreux gènes de barrière reproductrice ayant des modes d'action variables ont été décrits. Ainsi des gènes gamétophytiques dupliqués expliquent la stérilité pollinique F1 observée dans les croisements entre variétés *indica* et *japonica* d'*O. sativa* (Oka, 1974). Dans les combinaisons avec *O. glaberrima*, les systèmes de stérilité sporo-gamétophytique ont pour caractéristique de pouvoir intervenir également sur le gamétophyte femelle et ont donc pour conséquence de pérenniser la stérilité même au cours des croisements successifs. Loin d'être dispersés sur le génome du riz, de nombreux gènes de stérilité intervenant dans les barrières reproductives sont localisés sur le chromosome 6. La distorsion observée pour le marqueur *G30* témoigne vraisemblablement de la présence d'un de ces gènes de stérilité sporo-gamétophytique. Lorsque l'on compare la position de marqueurs communs aux différentes cartes de liaison génétique disponibles (*wx*, *G30*, *C*, *Est-2*), la zone distale du chromosome 6 est très sensiblement plus petite dans le croisement entre *O. sativa* et *O. glaberrima* par rapport à ce que l'on observe entre les mêmes marqueurs sur les cartes de référence intraspécifiques ou même interspécifiques. Sur le plan morphologique, la forte déviation de la population est également conforme avec la présence de gènes gouvernant certains caractères concernés par les distorsions sur le chromosome 6 : gène de photosensibilité *Se-1*, gène *C*, codant pour le chromogène qui permet la pigmentation anthocyanique de certains organes de la plante, QTLs intervenant sur la ramification des panicules (Pham, 1990). Ainsi, la liaison génétique de ces caractères avec des gènes de stérilité extrêmement puissants peut rendre compte des relations morphologie-viabilité et des restrictions à la recombinaison sur les secteurs chromosomiques concernés.

Théoriquement, l'introgression chez *O. sativa* d'un caractère lié à un « gamète eliminator » présent chez *O. glaberrima* sera favorisée au cours des croisements successifs mais sera liée à une stérilité très forte. Inversement si le gène provoquant la stérilité est présent chez *O. sativa*, il ne sera pas possible d'intrégesser un gène utile issu d'*O. glaberrima*. Les travaux de Sano (1985) à partir de lignées isogéniques suggèrent la présence simultanée de tels gènes sporo-gamétophytiques à la fois chez *O. sativa* et *O. glaberrima*. L'observation de graines dont l'albumen est détérioré dans les autofécondations des plantes issues de croisement peut témoigner de phénomènes de complémentarité entre ces gènes et des effets de dosage défavorable dans l'albumen triploïde. De fait, la restauration de la fertilité des croisements entre *O. sativa* et *O. glaberrima* varie beaucoup suivant les combinaisons mises en jeu. Certaines variétés d'*O. glaberrima* de Casamance (Sénégal) sont plus aptes à donner des descendants fertiles alors que d'autres variétés sont très difficiles à croiser et ceci quelque soit le parent *O. sativa* concerné. En outre, il semble exister une relation entre l'aptitude à l'androgénèse et la possibilité de donner des descendants fertiles. Les croisements avec les variétés pluviales du groupe *japonica* sont plus faciles et permettent une restauration de la fertilité nettement meilleure que les combinaisons avec des variétés *indica* (Jones *et al.*, 1996). La comparaison des distorsions de ségrégation entre descendances issues naturellement de croisement et issues d'haplométhode pourrait renseigner valablement sur l'acquisition de la stérilité par les microspores et si l'androgénèse permettait de court-circuiter certaines barrières reproductives. Enfin, il est observé que des descendances interspécifiques fixées peuvent être recroisées plus facilement que ce soit avec des variétés très difficiles à croiser d'*O. glaberrima* ou des variétés *indica* d'*O. sativa* (M. Jones, comm. pers.). Ceci suggère donc qu'au cours des générations avancées, les « gamètes eliminator » sont fixés et peuvent jouer un rôle efficace de ponts interspécifiques vis-à-vis d'autres lignées d'*O. glaberrima*.

La cartographie du génome d'*O. glaberrima* permet de mettre en évidence des points chauds renfermant des gènes de barrière reproductrice dont l'identification est indispensable pour déterminer l'utilisation potentielle de l'espèce africaine de riz en introgression avec *O. sativa*. Les résultats soulignent également l'importance de travailler sur des effectifs élevés permettant par marqueurs moléculaires de détecter de rares recombinants favorables pour lesquels la fertilité ne serait plus limitante. Ceux-ci peuvent fournir les descendances nécessaires pour l'évaluation des caractères intéressants et l'étude de leur hérédité dans un contexte génétique interspécifique. Dans cet objectif, une vingtaine d'individus ont été recroisés avec IR64 pour fournir la deuxième génération tout en limitant la dérive en génome d'*O. glaberrima*. La cartographie génétique a permis déjà d'identifier différents segments chromosomiques pour lesquels un processus d'introgression est envisageable grâce aux marqueurs moléculaires. L'obtention de lignées d'introgression fixées connues et la caractérisation des barrières reproductives prennent tout leur intérêt dans la mesure où d'une part il n'est pas envisageable de reproduire cette approche systématique sur un grand nombre de lignées différentes d'*O. glaberrima* et où, d'autre part, les caractères utiles susceptibles d'être introgressés sont très largement dispersés dans les variétés d'*O. glaberrima*. L'utilisation de ponts interspécifiques bien caractérisés offre à terme deux avantages en gestion des ressources génétiques : premièrement, celui de pouvoir constituer des populations sources dont la diversité génétique serait plus facilement mobilisable en amélioration des plantes (prebreeding) et deuxièmement celui de fournir les bases rationnelles d'une conservation dynamique des ressources génétiques d'*O. glaberrima* sous forme vivante (conservation *in situ* ou conservation à la ferme).

## REFERENCES

- Akagi H, Yokoseki Y, Inagaki A, Fujimura T (1996) Microsatellite DNA markers for rice chromosomes. *Theor. Appl. Genet.* 93:1071-1077
- Alam M (1988) Evaluation of rice cultivars for resistance to *Diopsis longicornis* (Diptera: Diopsidae). *J. Econ. Entomol.* 81:934-936
- Attere A, Fatokun C (1983) Reaction of *Oryza glaberrima* accessions to rice yellow mottle virus. *Plant Dis.* 67:420-421
- Awoderu VA (1991) Rice Yellow Mottle virus in West Africa. *Trop. Pest Management* 37:356-362
- Babatola J (1983a) Pathogenicity of *Heterodera sacchari* on rice. *Nematologia Mediterranea* 11:21-25

- Babatola J (1983b) Rice cultivars and *Heterodera sacchari*. *Nematologia Mediterranea* 11:103-105
- Bakker W (1971) Three new beetle vectors of Rice Yellow Mottle Virus in Kenya. *Neth. J. Pl. Pathol.* 77:201-206
- Bezançon G (1993) Le riz cultivé d'origine africaine *Oryza glaberrima* Steud. et les formes sauvages apparentées : diversité, relations génétiques et domestication. Thèse d'Etat, Université Paris XI-Orsay
- Causse MA, Fulton TM, Cho YG, Ahn SN, Chunwongse J, Wu K, Xiao J, Yu Z, Ronald PC, Harrington SE, Second G, McCouch SR, Tanksley SD (1994) Saturated molecular map of the rice genome based on an interspecific backcross population. *Genetics* 138:1251-1274
- Clark MF, Adams RN (1977) Characteristics of the microplate method of Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34:475-483
- Dally A, Second G (1990) Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated species of rice (Genus *Oryza* section *Oryza*). Cladistic-mutation and genetic-distance analysis. *Theor. Appl. Genet.* 80:209-222
- Diomandé M (1984) Response of upland rice cultivars to *Meloidogyne* species. *Revue Nématol.* 7:57-63
- Ghareyazie B, Huang N, Second G, Bennett J, Khush GS (1993) Comparison between PCR-based RFLP and Southern-based RFLP as DNA markers for germplasm classification in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice Genet. News.* 10:129-132
- Ghesquiere A, Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, Fargette D, Huang N, McCouch S, Notteghem J (1997) A major QTL for rice yellow mottle virus (RYMV) resistance is lying in a cluster of blast resistance genes on chromosome 12. *Phytopathology (soumis)*
- Hull R (1988) The sobemovirus group. In: R Koenig (eds) *The Plant viruses III. Polyedral virions with monopartite RNA genomes.* Plenum Press, New York, pp Pages 113-146
- Inoue T, Zhong HS, Miyao A, Ashikawa I, Monna L, Fukuoka S, Miyadera N, Nagamura Y, Kurata N, Sasaki T, Minobe Y (1994) Sequence-tagged sites (STSs) as standard landmarks in the rice genome. *Theor. Appl. Genet.* 89:728-734
- John V, Thottapilly G, Ng N, Allury K, Gibbons J (1985) Varietal reaction to rice yellow mottle virus resistance. *FAO Plant Protection Bull.* 33:109-111
- Jones M, Dingkuhn M, Aluko G, Semon G (1996) Interspecific *O. sativa* L. x *O. glaberrima* Steud. progenies in upland rice improvement. Workshop : Africa/Asia joint research on interspecific hybridization between the african and asian rice species (*O. glaberrima* and *O. sativa*). WARDA, Bouaké, Côte d'Ivoire.
- Jones M, Heinrichs E, Johnson D, Riches C (1994) Characterisation and utilisation of *Oryza glaberrima* in the upland rice breeding programme. WARDA, Annual report 1993, pp. 3-13. WARDA, Côte-d'Ivoire
- Kurata N, Nagamura Y, Yamamoto K, Harushima Y, Sue N, Wu J, Antonio BA, Shomura A, Shimizu T, Lin S-Y, Inoue T, Fukuda A, Shimano T, Kuboki Y, Toyama T, Miyamoto Y, Kirihiro T, Hayasaka K, Miyao A, Monna L, Zhong HS, Tamura Y, Wang Z-X, Momma T, Umehara Y, Yano M, Sasaki T, Minobe Y (1994) A 300 kilobase interval genetic map of rice including 883 expressed sequences. *Nature Genetics* 8:365-372
- Luc M, Merny G (1963) *Heterodera sacchari* n. sp. (Nematoda : *Tylenchoidea*) parasite de la canne à sucre au Congo-Brazaville. *Nematologica* 9:31-37
- Merny G (1970) Les nématodes phytoparasites des rizières inondées en Côte d'ivoire. I. les espèces observées. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.* 11:3-43
- Ng N, Jacquot M, Abifarín A, Goli K, Ghesquière A, Miezán K (1983) Rice germplasm collection and evaluation in West Africa. In: *Proceedings of the International Rice Genetic Resources, IRRI, Lõs Baños, the Philippines, 1983,* pp
- Oka H (1974) Analysis of genes controlling F1 sterility in rice by the use of isogenic lines. *Genetics* 77:521-534
- Panaud O, Chen X, McCouch S (1995) Frequency of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). *Genome* 38:1170-1176
- Paul C, Ng N, Laleinde T (1995) Diallel analysis of resistance to rice yellow mottle virus in african rice *O. glaberrima* Steud. *J. Genet. & Breed.* 49:217-222

- Pham J (1990) Identification of genetic markers for quantitative traits in rice. C. R. Acad. Sci. Paris Série III, 310:477-483
- Pham J, Bougerol B (1989) Abnormal segregation patterns in crosses between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. Rice Genet. News. 6:80-82
- Portères R (1950) Vieilles agricultures de l'Afrique intertropicale. Centres d'origine et de diversification variétale primaire et berceaux de l'Agriculture antérieure au XVIe siècle. Agronomie Tropicale V:489-507
- Reversat G (1981) Potassium permanganate as a hatching agent for *Heterodera sacchari*. Revue Nématol. 4:174-176
- Reversat G, Destombes D (1997) Screening for resistance to *Heterodera sacchari* in the two cultivated rice species, *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. Fundamental and Applied Nematology soumis:
- Sano Y (1985) Sterility barriers between *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. In: Rice Genetics, Proceedings of the International Genetics Symposium, IRRI, Los Baños, the Philippines, 27-31 may 1985, pp 109-118
- Sano Y, Sano R, Eiguchi M, Hirano H (1994) Gametic eliminator adjacent to the *wx* locus as revealed by pollen analysis in rice. J. Hered. 85:310-312
- Sano Y, Sano R, Morishima H (1984) Neighbour effects between two occurring rice species, *Oryza sativa* and *O. glaberrima*. J. Appl. Ecol. 21:245-254
- Sauphanor B (1985) Some factors of upland rice tolerance to stem-borers in West Africa. Insect Science and its application 6:429-434
- Second G (1982) Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza* spp.): study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. Jpn. J. Genet. 57:25-57
- Second G, Wang Z (1992) mitochondrial DNA RFLP in genus *Oryza* and cultivated rice. Gen. Res. & Crop Evol. 39:125-140
- Thresh JM (1991) The ecology of tropical viruses. Plant Pathol. 40:324-329
- Wang Z, Second G, Tanksley S (1991) Polymorphism and phylogenetic relationships among species in the genus *Oryza* as determined by analysis of nuclear RFLPs. Theor. Appl. Genet. 83:565-581
- Wu K, Tanksley S (1993) Abundance, polymorphism and genetic mapping of microsatellites in rice. Mol. Gen. Genet. 241:225-235

Ndjiondjob M.N., Lorieux Mathias, Séquier Jacques, Fargette Denis, Reversat Georges, Second Gérard, Ghesquière Alain.

Application des marqueurs moléculaires et de la cartographie génétique à l'utilisation et à la conservation des ressources génétiques de l'espèce africaine de riz cultivé, *Oryza glaberrima* Steud.

In : Actes du colloque : gestion des ressources génétiques des plantes en Afrique des savanes.

Bamako (MLI), Paris (FRA), Montpellier : IER, BRG, Solagral, 1997, p. 211-220.

Gestion des Ressources Génétiques des Plantes en Afrique des Savanes : Colloque, 1997/02/24-28, Bamako