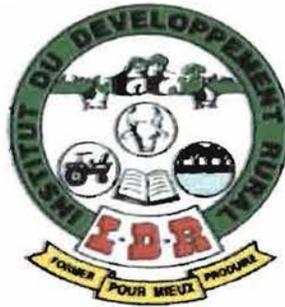


BURKINA FASO
Unité-Progrès-Justice

MINISTERE DES ENSEIGNEMENTS SECONDAIRE ET SUPERIEUR

UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO DIOULASSO

INSTITUT DU DEVELOPPEMENT RURAL



MEMOIRE DE FIN DE CYCLE
en vue de l'obtention du
diplôme de Master en Production Végétale

Thème :

**Caractérisation moléculaire des lignées en disjonction
issues de croisement de dix variétés de riz de fort potentiel
de rendement pour leurs composantes de rendement.**

Présenté par : DAO Karim

Directeur de mémoire :

Dr. Irénée SOMDA, Maître de Conférences / UPB

Maître de stage :

Dr. Yonnelle Dea MOUKOUMBI, Chercheur à AfricaRice /Saint-Louis

N° /2014/MaPV

Mai 2014

Table des matières	Pages
DEDICACE	v
REMERCIEMENTS	vi
SIGLES ET ABREVIATIONS	vii
LISTE DE TABLEAUX	ix
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES PHOTOS	x
RESUME	xi
ABSTRACT	xii
Introduction générale	1
Chapitre I : Généralités sur le riz, la riziculture en Afrique Sub Saharienne (ASS) et au Sénégal	4
1.1. Origine et taxonomie	4
1.2. Structure de la plante	5
1.3. Organes végétatifs	6
1.3.1. Tige et tallage	6
1.3.2. Organes reproducteurs	7
1.3.2.1. Panicule	7
1.3.2.2. Grain	8
1.3.3. Croissance et développement de la plante du riz	8
1.3.3.1. Phase végétative	9
1.3.3.2. Phase reproductive	9
1.3.3.3. Phase de maturation	9
1.3.4. Stades de développement de la plante du riz	10

1.4. Ecologie du riz	11
1.4.1. Sol	11
1.4.2. Eau	11
1.4.3. Lumière	12
1.4.4. Température	12
1.5. Importance de la riziculture	12
1.5.1. Types de rizicultures	13
1.5.1.1. Riziculture pluviale stricte	13
1.5.1.2. Riziculture de bas-fonds.....	13
1.5.1.3. Riziculture irriguée	14
1.5.2. Importance socio-économique du riz.....	15
Chapitre II : Amélioration variétale du riz	16
2.1. Définition de l'amélioration variétale	16
2.2. Objectifs fondamentaux de l'amélioration variétale.....	16
2.3. Définition de la notion de rendement.....	17
2.3.1. Caractéristiques du rendement.....	17
2.3.2. Types de rendement et leurs caractéristiques.....	17
2.3.3. Principe d'élaboration des composantes de rendement	18
2.4. Caractérisation : Outils de l'amélioration variétale	19
2.4.1. Caractérisation phénotypique.....	20
2.4.1.1. Création des nouveaux types de riz.....	20
2.4.2. Caractérisation moléculaire.....	21
2.4.3. Principaux marqueurs	21
2.4.3.1 Marqueurs biochimiques.....	21
2.4.3.2 Marqueurs à polymorphisme d'amplification arbitraire	22
2.4.3.3 Polymorphisme de longueur de fragment de restriction	22
2.4.3.4. Polymorphisme de longueur de fragments d'amplification.	23

2.4.4. Marqueurs de types microsatellites.....	23
2.4.4.1. Importance et avantages des marqueurs SSR	23
2.4.4.2. Principales contraintes des marqueurs SSR	24
2.4.4.3. Principe de réaction de polymérisation en chaine.....	24
2.4.4.4. Marqueurs à polymorphismes d'un seul nucléotide	25
2.4.4. Importance de l'utilisation des marqueurs moléculaires dans l'amélioration variétale	26
Chapitre III : Présentation de la structure d'accueil et méthodologie de l'étude	27
3.1. Description de la structure d'accueil.....	27
3.1.1. Mission d'AfricaRice	27
3.1.2. Présentation de la station expérimentale de Ndiaye.....	27
3.2. Méthodologie de l'étude	28
3.2.1. Matériel végétal.....	28
3.2.2. Méthodologie	28
3.2.2.1. Collecte des feuilles et préparation des échantillons	28
3.2.3. Extraction d'ADN	29
3.2.3.1. Quantification et la qualité de l'ADN	30
3.2.3.2. Choix des amorces	30
3.2.4. Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)	31
3.2.4.1 Electrophorèse.....	32
3.2.4.2 Lecture des gels.....	33
3.3.3. Analyse des données	33
4.1. Résultats	34
4.1.1. Identification des allèles parentaux au sein des différentes populations	34
4.1.2. Populations cultivées dans les conditions de riziculture aérobie	34
4.1.3. Populations cultivées dans les conditions de riziculture irriguée	36

4.1.4. Etude du polymorphisme entre les variétés parentales	38
4.1.5. Exemple de révélation avec l'amorce RGS1-SSR1 (GS3) avec le croisement Kogoni 90-1/ IR55423-01	38
4.1.6. Pourcentage d'introgession des lignées issues de NERICA-L-20/Giza 178	39
4.1.6.1. Fréquence allélique des différents marqueurs.....	40
4.1.5.2. Identification des lignées en disjonctions	40
4.1.6.3. Classification hiérarchique des lignées en disjonction	41
4.1.7. Pourcentage d'introgession des différents traits	42
4.1.7.1. Fréquence allélique des marqueurs utilisés.....	42
4.1.7.2. Identification des lignées en disjonction	43
4.1.7.3. Classification hiérarchique des lignées en disjonction	44
4.1.7.5. Fréquence allélique des marqueurs utilisés.....	45
4.1.7.6. Identification des lignées en disjonction.....	46
4.1.8. Analyse de la population Kogoni/IR55423-01	47
4.2. Discussion.....	48
Conclusion générale et perspectives.....	51
Références bibliographiques.....	53
ANNEXES.....	xiv

DEDICACE

*Gloire et honneur au père céleste, Dieu tout puissant,
car sa grâce et sa bonté m'ont accompagné jusque là.*

Je dédie le présent mémoire

A

Mes très chers parents,

Papa DAO S. Elisée et Maman YEDAN S. Christine,

Pour tous les nombreux sacrifices consentis.

*Par la grâce de Dieu et par vous, je suis arrivé à ce stade,
recevez ce travail comme le début des fruits de vos efforts, veuillez y trouver
l'expression de ma profonde gratitude*

et mon affection pour vous.

Puisse le Christ vous unir davantage et vous permettre

de vivre le plus longtemps possible à nos côtés.

Amen !!

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier certaines personnes et structures, qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à la réalisation du présent mémoire. Nous leurs témoignons toute nos sincères reconnaissances. Nos remerciements s'adressent particulièrement à :

- le Centre de recherche **AfricaRice** à travers le Projet d'Appui aux Centres d'Excellence et de la Recherche (**PACER**) de Union Economique Monétaire Ouest Africaine (**UEMOA**) grâce auquel nous avons eu l'opportunité de faire notre stage. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude ;

- **Dr Vincent B. BADO**, Représentant du centre Régional AfricaRice Station du sahel (Sénégal/Saint-Louis), de nous avoir accepté en qualité de stagiaire dans la station ;

- **Dr Yonnelle D. MOUKOUMBI**, notre encadreur et maître de stage pour l'intérêt qu'elle a porté à notre stage à travers sa disponibilité, son accessibilité, sa rigueur dans le travail, ses orientations fournies et ses riches conseils, mention spéciale à elle ;

- **Dr Koffi I. BIMPONG**, responsable du laboratoire de Biotechnologie pour sa disponibilité, la fourniture de la logistique pour les travaux de laboratoire et ses conseils ;

- **Pr Irénée SOMDA**, Directeur de l'Institut du Développement Rural (**IDR**) et notre directeur de mémoire pour son engagement dans la formation de ses étudiants ;

- Tout le corps enseignant de l'**IDR**, qui s'est investi à notre formation à travers de brillant cours. Que tous trouvent ici l'expression de nos profondes reconnaissances ;

- **Dr Karim TRAORE** et Famille, pour son accessibilité, son soutien, ses conseils pendant le stage, la chaleur sociale dont nous avons bénéficié en famille et ses riches encouragements ;

- **Dr Baboucar MANNEH**, pour son attention et ses conseils particuliers à notre endroit ;

- **MM. Daouda NBODJ, Tiémogo COULIBALY, Souleymane GAYE, Mansour DIOP**, pour leur assistance et leurs soutiens multiples durant ce stage et à tout le personnel de l'administration d'AfricaRice dont les noms n'ont pas été cités ;

- Tout le personnel du laboratoire de biotechnologie, **MM. Nana KOFFI, et Mamadou SOCK, Mlle Faty DIAW, Anta GEYE**, pour leurs soutiens multiples durant la conduite de notre stage au laboratoire de biotechnologie végétale ;

- Mes Co-stagiaires de l'UEMOA, **ZONGO N. Ella, COULIBALY M. Audrey, YAPI V. Noëlle**, pour l'ambiance quotidienne et la fraternité dont elles ont fait montre pendant ce stage et à **KITIGA K Marchais** pour sa contribution à la lecture du document ;

- **Monsieur Roland GOULLA**, Cher compatriote, qui nous faisait envoler la nostalgie du pays, et sa contribution à la lecture de notre document, ainsi qu'à **MM. Nabié C. BEKOUANA, Osée BONKIAN, Sémayeza BONZI, Joacquine MILLOGO**, pour leurs contributions à travers la lecture et suggestion pour l'amélioration de la qualité du document. Enfin à **Mlle Elisabeth DAO**, merci pour son soutien morale et spirituel.

Que tous trouvent ici l'expression de nos profondes reconnaissances.

SIGLES ET ABREVIATIONS

ADRAO :	Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest
AFLP :	Amplified Fragment Length Polymorphism
AfricaRice :	Centre du Riz pour l'Afrique
ARC :	Africa Rice Center
ASS :	Afrique Sub-Saharienne
BET :	Bromide Ethidium
CEA :	Commission Economique pour l'Afrique
CIRAD :	Centre International de Recherche Agricole et du Développement
cM :	Centi morgane
CTAB :	Cetyltrimethylammonium bromide
EST :	Expressed Sequence Tag
FAO :	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'agriculture
GCRAI :	Groupe Consultatif pour la Recherche Agricole Internationale
Gn1a :	Grain number, gène localisé sur le chromosome 1
GS3 :	Grain Size, gène localisé sur le chromosome 3
GW5 :	Grain weight, gène localisé sur le chromosome 5
IDR :	Institut du Développement Rural
INP :	Institut National de Pédologie
IRRI :	International Rice Research Institute
ISRA :	Institut Sénégalais de Recherches Agricoles
ITA :	Institut de Technologie Alimentaire
Kb :	Kilo base
NERICA :	New Rice for Africa
NIL :	Near Isogenic Lines
NPT :	New Plant Type
pb :	Pied de base

PCR :	Polymerase Chain Reaction
PNUD :	Programme des Nations Unies pour le Développement
QTL :	Quantitative Traits Loci
RAPD :	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP :	Restriction Fragments Length Polymorphism
RIL :	Recombinante Isogenic Lines
RYMV :	Rice Yellow Mottle Virus
SAED :	Société Nationale d'Aménagement et d'Exploitation Des Terres du Delta du fleuve Sénégal et des Vallées du fleuve Sénégal et de la Falémé
SAM :	Sélection Assistée par Marqueurs
SNP :	Single Nucleotide Polymorphism
SSR :	Simple Sequence Repeat
UV :	Rayon Ultra-violet
VFS :	Vallée du Fleuve Sénégal

LISTE DE TABLEAUX

Pages

Tableau 1: Principales caractéristiques des deux espèces cultivées et rencontrées en Afrique . 5	
Tableau 2 : Dix stades de développement du plant de riz.....	10
Tableau 3 : Phases d'élaboration des composantes de rendement.....	19
Tableau 4 : Liste des croisements	28
Tableau 5: Marqueurs moléculaires associés aux QTLs relatifs aux composantes de rendement	30
Tableau 6: Composition du mix utilisé.....	31
Tableau 7 : Identification de l'allèle du parent donneur pour les populations en irriguée	35
Tableau 8: Identification de l'allèle du parent donneur pour les populations en aérobie	37
Tableau 9 : Polymorphisme des marqueurs en fonction des croisements.....	38
Tableau 10 : Fréquence allélique des principaux marqueurs	40
Tableau 11: Lignées en disjonction par composante de rendement.....	40
Tableau 12 : Fréquence des marqueurs.....	42
Tableau 13 : Lignées en disjonction concernées.....	43
Tableau 14: Population NL19/IR8	45
Tableau 15 : Fréquence des marqueurs.....	45

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1: Plante de riz (ADRAO, 2009)	6
Figure 2: Epillet du riz (www.rizepillet.htm)	8
Figure 3: Phases de croissance du riz (ADRAO/SAED, 2011)	10
Figure 4: Proportion des superficies rizicoles en Afrique Sub-Saharienne (FAO, 2007).....	12
Figure 5 : Evolution de la production, consommation, stocks échanges dans le monde (USDA, 2012)	15
Figure 7: Types d'écart de rendement (FAO, 2004)	18
Figure 8 : Principe de la PCR, processus d'amplification de l'ADN	25
Figure 9 : Préparation des échantillons et processus d'extraction d'ADN	29
Figure 10 : Préparation de l'ADN et son amplification	32
Figure11: Révélation d'un gel obtenu par le marqueur RGS1-SSR1 (GS3)	39
Figure 12 : Nombre de traits introgressés par les lignées en disjonction issues du croisement NL20/GIZA178.....	39
Figure 13 : NJ Dendrogramme de la population NL20/Giza178.....	41
Figure 14 : Niveau d'introggression des allèles pour le croisement Wita4/IR64 Sub1	42
Figure 15 : Dendrogramme des 94 lignées	44
Figure 16 : Dendrogramme de la population NL19/IR8 par la méthode de NJ.....	46

LISITE DES PHOTOS

Photo 1: Riziculture de plateau	13
Photo 2 : Riziculture de bas-fond.....	14
Photo 3: Riziculture irriguée.....	14
Photo 4: Cuve à électrophorèse (DAO ; 2013)	32
Photo 5: Gel doc et ordinateur (DAO ; 2013).....	33

RESUME

La production mondiale en riz est face au défi de manque de terre, d'eau et de la faible utilisation des intrants. Une approche efficace de sélection permettra de répondre à ce défi. En effet, les composantes de rendement constituent les caractéristiques qui déterminent le rendement d'une variété. Ainsi, une lignée de riz tout comme les autres céréales est autant productive, performante, que son rendement potentiel est élevé. L'exploitation de ces composantes de rendement dans le processus de l'amélioration variétale, afin d'accroître leurs potentiels de rendement, se présente comme une alternative à entreprendre.

L'objectif global de cette étude à travers la caractérisation moléculaire, est de parvenir à mettre au point de nouveau paquet technologique visant à accroître le rendement potentiel des variétés du riz. L'ensemble des lignées soumises à la présente étude sont de la génération F₂, issues du croisement de dix variétés de riz de fort potentiel de rendement.

L'ADN des feuilles de ces lignées a été extrait suivant la méthode de CTAB et cet ADN a servi de support de travail. La sélection assistée par marqueurs (SAM) a utilisé des marqueurs de type SSR et Indel à savoir RGS2-SSR2, Gn1a-SSR2-00, SCM2 3628-55-03 et GW5-1 Indel associés aux 4 composantes de rendement considérées à savoir le poids du grain (GW5), la taille du grain (GS3), le nombre de grains par panicule (Gn1a) et la caractéristique de tige forte panicule lourde (SCM2/APO1). L'analyse des résultats a mis en évidence 4 lignées en disjonction à savoir V304, V285, V415 et V543 qui ont introgressé les 4 traits considérés. Ces lignées ont les plus fortes performances en terme de nombre de traits acquis dans leur fonds génétiques. Nous avons enregistré en plus, à travers toutes les populations, deux groupes distincts de 14 lignées et 79 lignées en disjonction de performance non moindre. Celles-ci ont introgressé respectivement dans leurs fonds génétiques 3 et 2 traits des 4 traits ou composantes de rendements étudiés. L'arbre phylogénétique affiche pour ces lignées des distances génétiques plus ou moins similaire à celles du parent donneur. L'ensemble de ces lignées identifiées ont une prédisposition grâce aux traits introgressés à l'augmenter de leur rendement potentiel.

Mots clés : Riz, rendement potentiel, introgression, composante de rendement, marqueurs SSR, marqueur Indel, lignées en disjonction.

ABSTRACT

The future of global food production faces the challenges on less land, less water and fewer inputs. So an effective rice breeding approach is required to respond to these challenges. Yield components constitute the main traits whose define the yield of a variety. Then, rice line as all cereals lines are considering productive line if its potential yield is higher. The exploitation of these yield components for rice variety improvement looks a best alternative to increase the yield potential.

The main target of this study through molecular characterization is to get new technology packet that can increase the potential yield of rice varieties. Vegetal materials used in this study are all F₂ generation and are progenies of crossing between ten (10) varieties of high yield potential. For the need of this study, DNA of each line is extract from young leaves following the CTAB method. Markers assisted selection (MAS) used three SSR markers (RGS2-SSR2, Gn1a-SSR2-00, SCM2 3628-55-03) and one indel marker (GW5-1) associated to the four yield components required in this study such us grain weight (GW5), grain number (Gn1a), grain size (GS3) and the characteristic of plant strong Colum with panicle heavy (SCM2/APO1). The results show four (4) disjunction lines such L304, L285, L415 and L543 whose introgressed the 4 traits considering. Forever, from all the progenies, one group of fourteen (14) lines and other group of seventy and nine (79) lines have introgressed respectively three and two traits in their genetic background. The phylogenetic tree shows for these lines a less similarity to the donor parent about the genetic distances. All these lines identified have a predisposition through traits introgressed to increase their yield potential.

Keywords: Rice, yield potential, introgressing, yield components, SSR markers, indel markers, disjunction lines.

Introduction générale

Le riz est la deuxième céréale après le maïs en termes de superficie cultivée dans le monde. Cultivé sur 163,5 millions d'hectares en 2013, sa production s'élève à 746,4 millions de tonnes. Cette production est soutenue par un rendement moyen de 4,6 t/ha (FAO Rice Market Monitor, 2013). Par ailleurs, le riz reste la principale source de protéine et constitue la base de l'alimentation de plus de 2,5 milliards de personnes dans les pays en voie de développement tels que les pays de l'Asie et certains pays en Afrique, où la consommation par habitant et par an peut atteindre les 100 kg (Courtois, 2007). Selon le même auteur, la production du riz et sa consommation dans le monde reste largement dominée par l'Asie, qui à lui seul, produit sur 90% des surfaces cultivées. L'Amérique Latine et l'Afrique ne produisent que sur les 10% des surfaces restantes. Ce riz produit dans les cinq continents est destiné principalement à l'autoconsommation. Seulement, environ 7% de cette production est commercialisée.

En Afrique, plus de 40 pays pratiquent la riziculture (Balasubramanian *et al.*, 2007). En effet, la population de certaines zones de l'Afrique de l'Ouest et du Centre s'adonne à cette activité. Par conséquent, elle permet d'assurer l'alimentation de près de 20 millions de riziculteurs et d'employer plus de 100 millions de personnes si on admet une moyenne de cinq (5) personnes par famille productrice (ADRAO, 2002). La consommation de cette céréale connaît un engouement de plus en plus marqué en Afrique. Selon les statistiques d'AfricaRice (2009), elle s'est accrue de 4,5% par an de 1961 à 2006 pendant que la production n'a évolué que de 3,2%. Par ailleurs, le riz occupe une place de choix dans l'économie et dans l'alimentation des ménages urbains et ruraux sénégalais. Cette activité fait vivre directement plus de 300000 ménages Sénégalais soit au moins 1,5 million de personnes. Les besoins de consommation en riz y atteignent aujourd'hui 74 kg/an par habitant (Rapport pays-Sénégal, 2010), classant le pays parmi les plus grands consommateurs de riz en Afrique de l'Ouest. La production nationale est insuffisante pour faire face à cette forte consommation, soutenue par l'accroissement démographique et l'urbanisation croissante. De 1995 à 2007, la consommation nationale est passée de 400.000 à 800.000 tonnes mais avec une valeur marchande de 106 milliards de FCFA pour les importations nettes, soit environ 7% du montant total des importations du pays (Ministère de l'Agriculture du Sénégal, 2009).

Pour faire face à la demande en riz sans cesse croissante des populations dans le monde, les chercheurs notamment ceux de l'International Rice Research Institute (IRRI), depuis

plusieurs décennies sont parvenus à mettre en place des variétés à fort rendement adaptées aux conditions de cultures spécifiques. Ainsi, le « New plant type »(NPT) première génération, seconde génération et le riz hybride ont été mis en place (Peng *et al.*, 2008). Pour ces variétés, les rendements potentiels enregistrés sont compris entre 10 et 12 t/ha (Riz hybride). En Afrique Sub-Saharienne (ASS), la riziculture irriguée occupe une place prépondérante avec 14 % des surfaces cultivées et fournit près de 33% de la production totale (FAO, 1998). En effet, les rendements potentiels en riziculture irriguée tropicale avec les variétés indica de type IR64 se sont stabilisés à 10 t/ha depuis plusieurs années (Peng *et al.*, 1999).

Le rendement est par définition la quantité de production d'une culture par unité de surface. Selon les conditions de production et la capacité du producteur, on distingue deux (2) types de rendement notamment le rendement potentiel et le rendement réel. Les rendements potentiels des variétés améliorées largement cultivées dans la vallée du Fleuve Sénégal sont variétés de type Sahel et oscillent entre 10 et 13 t/ha et le rendement réel est de l'ordre de 6 t/ha en milieu paysan. Depuis plusieurs années, ces rendements se sont stabilisés et malheureusement, l'utilisation des méthodes conventionnelles de sélection et d'amélioration variétale n'a pas permis de booster ce plateau du rendement potentiel observé depuis une vingtaine d'années (Peng *et al.*, 1999). En effet, à titre d'exemple, les variétés IR 8 et IR72 depuis plus de 20 ans ont un rendement qui se limite entre 9 et 10 t/ha. Face à la stagnation des rendements potentiels, les sélectionneurs sont parvenus à mettre en place de nouveaux mécanismes de création variétale combinant les méthodes conventionnelles de sélection et l'exploitation de l'outil moléculaire pour accroître le rendement potentiel. La méthode basée sur la sélection assistée par marqueurs (SAM), qui utilise les marqueurs moléculaires avec des QTLs associés aux différentes composantes de rendement pouvant permettre d'accroître le rendement potentiel. C'est dans cette optique que s'inscrit l'étude intitulée : «Caractérisation moléculaire des lignées en disjonction issues de croisement de dix variétés de riz de fort potentiel de rendement pour leurs composantes de rendement».

Cette étude vise globalement l'augmentation du rendement potentiel des variétés irriguées actuellement cultivées en vue de mettre au point des nouveaux paquets technologiques qui vont manifestement contribuer à booster la production rizicole et atteindre l'autosuffisance alimentaire. De façon spécifique, il s'agira d'identifier à partir des profils moléculaires les performances de chaque lignée en disjonction par rapport à une composante de rendement considérée ; de les classer par composante de rendement et enfin d'identifier celles qui seront utilisées dans le processus des intercroisements.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons émis l'hypothèse suivante : la caractérisation moléculaire permettra-t-elle d'identifier les lignées en disjonction ayant introgressé un ou plusieurs allèles d'une ou plusieurs composantes de rendement ?

Nous aborderons cette étude en quatre parties : la première partie est consacrée à la revue bibliographique mettant en évidence la contribution de la sélection variétale sur les composantes de rendements dans l'augmentation du rendement potentiel des variétés actuellement cultivées. La deuxième partie présente la méthodologie de l'étude après une brève description de la station de recherche, La troisième partie est consacrée aux résultats et discussion. Enfin, la quatrième partie aborde la conclusion générale et les perspectives de recherche.

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le riz, la riziculture en Afrique Sub Saharienne (ASS) et au Sénégal

1.1. Origine et taxonomie

Le riz appartient au genre *Oryza* qui compte plus d'une vingtaine d'espèces, dont deux sont cultivées à savoir *Oryza sativa* L. originaire d'Asie, et *Oryza glaberrima* Steud. originaire d'Afrique occidentale. *Oryza sativa* est l'espèce la plus cultivée et qu'on retrouve dans le monde entier, tandis que *Oryza glaberrima* est cultivée seulement sur le continent africain (AfricaRice, 2010).

Oryza sativa L. fut introduite en Afrique de l'Ouest par les Portugais (Pernes *et al.*, 1984) vers les années 1500 après J-C. Elle est plus vulnérable aux contraintes africaines locales mais, reste largement plus productive. C'est une espèce à ligule entière, caractérisée par la panicule retombante à maturité. L'espèce *sativa* renferme deux groupes à savoir :

- le groupe *Indica*, riz traditionnel irrigué ou de bas-fond, originaire de l'Asie tropicale. Cette sous-espèce se caractérise par un fort tallage, un épillet long et des grains longs et fins ;
- le groupe *Japonica*, riz traditionnel pluvial, originaire de la zone tempérée et subtropicale de l'Asie. Son tallage est moyen, ses épillets et ses grains sont courts et ronds.

Oryza glaberrima Steud est originaire d'Afrique, plus précisément du Delta central du Niger d'où elle s'est étendue vers les côtes de l'Afrique occidentale, Gambie, Casamance et le Bassin de Sokoto (Carpenter, 1977 cité par Moukounbi, 2001). La domestication du riz remonte à 4000 ans pour le riz africain (CIRAD, 2002). L'espèce cultivée *O. glaberrima* provient directement de la domestication de l'espèce sauvage annuelle *O. barthii*. Aujourd'hui, ce riz est de moins en moins cultivé en Afrique au profit du riz asiatique qui est de plus en plus préféré (Sié, 1991). Les études de Besançon (1993) cité par Ndjiondjop *et al.* (1997), distinguent deux principaux agro-écotypes (Tableau1) à savoir :

- Un type dressé précoce, insensible à la photopériode et cultivé en pluvial ou en zone de bas-fonds modérément inondés;
- Un type flottant tardif et photosensible, cultivé dans les plaines inondables. Cette espèce africaine renferme d'importantes ressources génétiques qui sont jusque là inexploitées (Pham, 1992).

C'est une espèce qui possède de nombreuses caractéristiques et qualités telles que la résistance à la sécheresse, la rusticité, la capacité à lutter contre les mauvaises herbes et la résistance aux maladies comme la pyriculariose, l'helminthosporiose, la panachure jaune du riz, aux insectes et aux nématodes. Elle présente également une bonne vigueur des plants (Adeyemi et Vodouhe, 1996).

Tableau 1: Principales caractéristiques des deux espèces cultivées et rencontrées en Afrique

<i>Oryza sativa</i> L.	<i>Oryza glaberrima</i> Steud
Plante annuelle	Plante annuelle
Chaume souple, tallant bien	Chaume rigide
Ligule longue, bifide, allongée	Ligule courte, tronquée, ovale
Panicule penchée	Panicule dressée
Pédicelles des épillets longs	Pédicelles des épillets courts
Glumes presque toujours courtes	Glumes longues ou courtes
Glumelles toujours hispides	Glumelles glabres ou hispides, souvent aristées
Caryopse généralement blanc	Caryopse souvent coloré en rouge, rougeâtre, parfois grisâtre, plus rarement blanc
Trois groupes culturaux : précoce, semi-précoce, et tardif	Deux groupes culturaux : précoce et très précoce
Cassure cornée ou semi-cornée	Cassure généralement semi farineuse, plus ou moins cornée
Épillets non caducs à maturité	Grand pourcentage d'épillets caducs à maturité
Peu de dormance	Dormance des semences très prononcée

Source : Sweeney et McCouch (2007).

1.2. Structure de la plante

Le riz est une plante herbacée annuelle avec une tige ronde recouverte, des feuilles sessiles plates en forme de lame et une panicule terminale. Sous des conditions climatiques favorables et exceptionnelles, la plante peut vivre plus d'une année. La plante a une hauteur variante de 0,5 à 1,5 m et peut atteindre quelque fois 10 m pour les variétés flottantes (ADRAO, 1992).

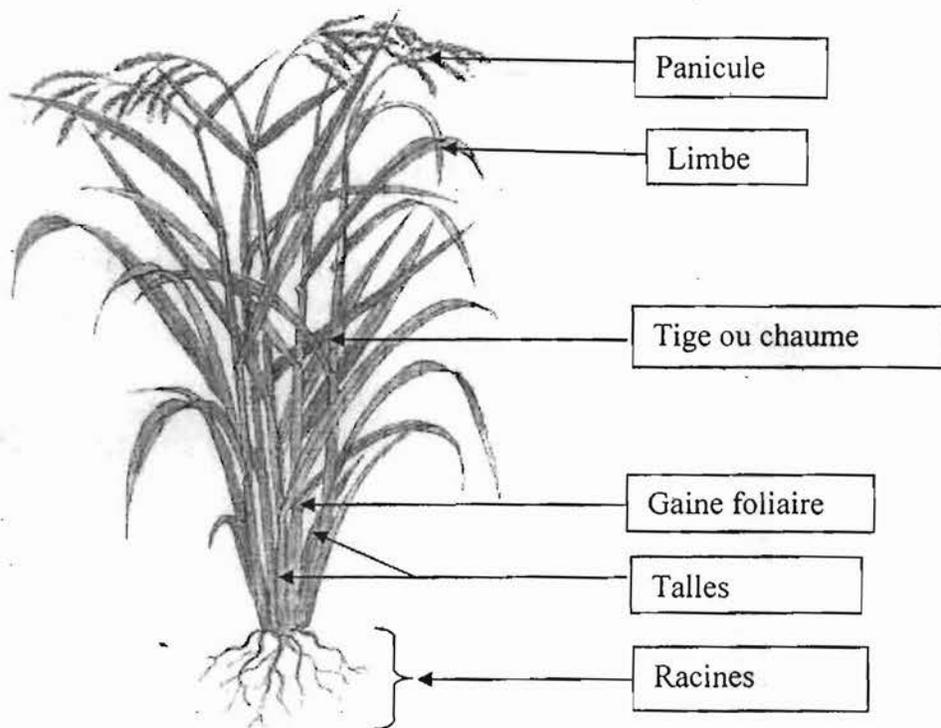


Figure 1: Plante de riz (ADRAO, 2002)

1.3. Organes végétatifs

Les racines du riz sont de type fasciculé, constituées de racines secondaires et de poils absorbants, explorant les 40 premiers centimètres du sol. Elles peuvent atteindre parfois une longueur maximale de 1,3 m à la floraison. En effet, la racine primaire qui croît à partir de la semence au moment de la germination, ne vit qu'un court moment. Elle est rapidement remplacée par des racines secondaires.

1.3.1. Tige et tallage

La tige du riz est épaisse et creuse, d'où son nom de chaume. La hauteur est variable en fonction des variétés. Elle possède des épaisissements ou nœuds sur lesquels s'insèrent les feuilles (Sié, 1991). Ces nœuds délimitent des entre-nœuds qui sont généralement courts à la base et plus longs au sommet de la tige. A la base inférieure de la tige, se trouvent des bourgeons qui donnent naissance aux tiges secondaires appelées talles primaires. Ces talles donneront à leur tour naissance aux talles secondaires puis tertiaires et quaternaires, etc. Pour chaque graine germée on peut compter plus de trente talles au stade végétatif donc, un nombre limité, et plus de la moitié produit des panicules.

Les feuilles prennent naissance à un nœud de la tige et sont constituées de deux parties : la gaine foliaire et le limbe foliaire. Généralement, au nombre de 10 à 20, elles sont

imbriquées les unes aux autres et de forme lancéolée. Elles apparaissent d'abord érigées puis s'allongent et s'incurvent plus ou moins. Elles sont sessiles, engainantes et se fixent sur les nœuds selon un angle en fonction des variétés cultivées. D'un vert foncé, les feuilles sont rugueuses au toucher dans le sens de la longueur du sommet à la base. Quant à la ligule, elle se trouve à la jointure entre le limbe et la gaine (ADRAO, 1992).

1.3.2. Organes reproducteurs

1.3.2.1. Panicule

La panicule est limitée par le nœud de la feuille paniculaire à sa partie inférieure et par le dernier grain à sa partie supérieure. C'est une inflorescence constituée d'un axe portant des ramifications primaires ou racèmes formant des grappes. Les grappes, portent à leur tour, des ramifications secondaires ou axiles. Ces dernières portent de petits épis de un ou plusieurs épillets. L'axe de floraison comporte deux parties : la partie inférieure appelée pédoncule ou collet qui est comprise entre le nœud paniculaire d'où se développe la gaine de la feuille paniculaire et la première ramification de la panicule. La partie supérieure appelée rachis, est l'axe de prolongement du pédoncule et porte les ramifications. Le pédoncule et le rachis se joignent au nœud inférieur de la panicule et la distance de ce nœud à l'articulation gaine - limbe paniculaire permet de mesurer le degré d'exsertion de la panicule. A maturité, le rachis étant plus ou moins flexible, la panicule peut avoir un port très variable : érigé, semi érigé ou pendant. Chaque épillet possède une fleur autogame, c'est-à-dire présentant des organes mâles et femelles faisant que le pourcentage de pollinisation croisée est relativement faible. Les organes mâles comprennent au plus six étamines et les organes femelles sont constitués par l'ovaire surmonté de deux stigmates plumeux (Figure 2).

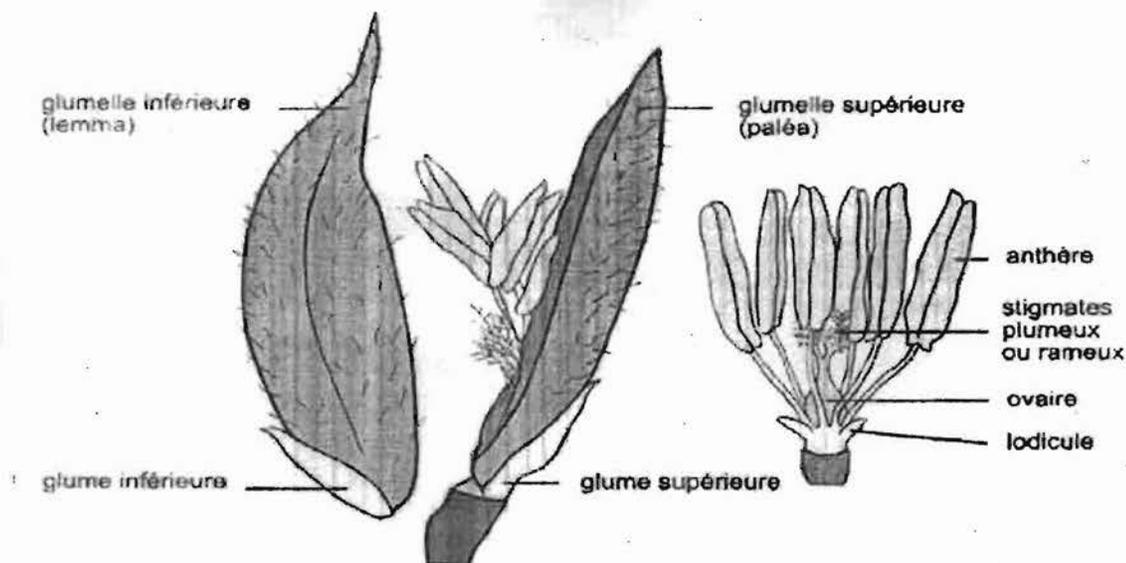


Figure 2: Epillet du riz (www.rizepillet.htm)

1.3.2.2. Grain

Le fruit ou grain du riz est un caryopse qui comporte, en son sein et à sa base, la plantule composée d'une tigelle, d'une radicule, d'une gemmule et d'un cotylédon, avec comme tissu de réserve, l'albumen (Angladette, 1966). Après la fécondation, l'ovaire se développe très rapidement et le caryopse ou grain du riz atteint sa taille maximale en sept (7) jours. La maturation du grain passe par différents stades à savoir, le stade grain laiteux, le stade grain pâteux et le stade grain dur. Le dernier stade est atteint lorsque 80 à 90% des grains de la panicule sont mûrs (ADRAO, 1995).

Le grain est enveloppé par 2 glumelles (Lemma et Paléa) intimement serties l'une à l'autre après la pollinisation. La réunion des 2 glumelles à l'extrémité supérieure de l'épillet forme le bec ou l'apex. La barbe ou aristation est le prolongement de la nervure centrale de la glumelle inférieure (ADRAO/SAED, 2011).

1.3.3. Croissance et développement de la plante du riz

Le riz a un cycle de développement qui va de la germination à la maturité physiologique de la graine. La croissance de la plante du riz passe par trois phases qui sont les phases végétative, reproductive et de maturation des grains (ADRAO, 1992). Chaque phase est caractérisée par ses différents stades de développement correspondant (figure 3).

1.3.3.1. Phase végétative

La phase végétative commence par la germination qui peut durer 5 à 20 jours et s'étend au tallage. Cette période de croissance et d'émission de tiges secondaires et tertiaires est le tallage. Celle-ci commence au stade cinq (05) feuilles de la plantule (ADRAO/SAED, 2011). En effet la durée de la phase végétative varie en fonction de la variété, des conditions climatiques et des pratiques culturales. Elle est affectée chez certaines variétés par la longueur du jour (ou photopériode) et par la température.

1.3.3.2. Phase reproductive

La phase reproductive s'étend de la formation des organes de reproduction jusqu'à la floraison. Selon ADRAO/SAED (2011), sa durée est comprise entre 21 et 30 jours. Les organes de reproduction sont formés et le nombre de grains y est déterminé pendant la division cellulaire. Cette phase comporte plusieurs stades :

- L'initiation paniculaire, c'est le stade de mise en place de la panicule chez le riz. La panicule à l'état de miniature n'est visible qu'en sectionnant longitudinalement la tige principale ;
- La montaison qui consiste à l'apparition de la feuille paniculaire et permet à la plante d'atteindre sa taille définitive ;
- La floraison qui correspond à l'ouverture des glumelles et à la sortie des étamines.

Cette phase est cependant très sensible aux conditions défavorables telles que les températures basses, la salinité, le manque d'eau, etc.

1.3.3.3. Phase de maturation

La maturation intervient après la fécondation suite à la pollinisation, l'ovaire se gonfle, le caryopse ou grain de riz se développe jusqu'à la maturité en passant par le remplissage en amidon liquide, puis pâteux et enfin la graine fini par durcir. Cette phase dure 30 à 45 jours en fonction des conditions de température et d'humidité du milieu (ADRAO/SAED, 2011).

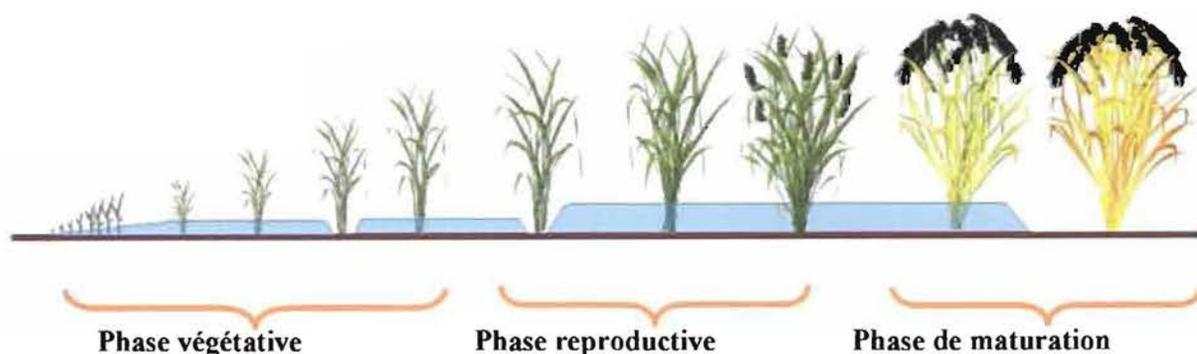


Figure 3: Phases de croissance du riz (ADRAO/SAED, 2011)

1.3.4. Stades de développement de la plante du riz

La vie du plant de riz est composée de dix stades de développements numérotés de 0 à 9 (tableau 2) ; le stade 0 correspondant au stade de germination et le stade 9 à la maturité.

Tableau 2 : Dix stades de développement du plant de riz

Stades	Description	Numéro	
Germination	Du semis à la sortie du coléoptile de la graine	0	
Plantule	De la sortie du coléoptile à l'apparition de la 5 ^e feuille (en comptant la première feuille sans limbe comme première feuille)	1	
Tallage	De l'apparition de la première talle à la sortie des panicules	2	
Elongation des entre-nœuds	Les entre-nœuds s'allongent et la plante croît	3	
Initiation paniculaire	De la sortie des panicules à leur développement complet à l'intérieur de la gaine de la feuille paniculaire	4	
Epiaison	De la première apparition du bout de la panicule hors de la gaine de la feuille paniculaire, jusqu'à une sortie des panicules > 90%	5	
Floraison	Des premières fleurs à la fin de la floraison des panicules	6	
Grain laiteux	Caryopse aqueux à laiteux	7	
Grain pâteux	Caryopse à l'état pâteux tendre à dur	8	
Maturation	Maturation de plus de 80% des épillets dans les panicules Caryopses pleinement développés en taille, en fermeté et sans teinte verdâtre	9	

Source : FAO (2003)

1.4. Ecologie du riz

Le riz fait une exception parmi les céréales cultivées parce qu'il tolère diverses conditions pédoclimatiques et hydrologiques. En effet, le riz est cultivé dans des milieux très variés couvrant une large gamme d'altitudes et de latitudes. Cette plante, d'origine aquatique, et donc assez exigeante en eau par rapport à d'autres céréales, est surtout caractérisée par une grande plasticité vis-à-vis de ses conditions d'alimentation hydrique. C'est sur ce point que se fondent la plupart des classifications des types de rizicultures.

1.4.1. Sol

Les sols propices pour la riziculture sont limoneux ou limono-argileux, meubles et aisément drainables (Traoré, 2009). Dans les bas-fonds, ce sont les sols hydromorphes et les vertisols qui sont appréciés. Pour la culture irriguée, les bons rendements s'obtiennent sur des sols à proportion équilibrée en argile, sable et limon (Doorembos et Kassam, 1987 cités par Nadie, 2008).

Au Sénégal, dans la Vallée du fleuve Sénégal où la pratique de la riziculture irriguée est la plus répandue, on distingue quatre principaux types de sol:

- les sols sableux, appelés « Dieri » ;
- les sols des cuvettes de décantation, appelées « Hollaldé », caractérisés par une forte teneur en argile (plus de 60 %) ;
- les sols de haute levée, appelés « Fondé », caractérisés par une faible teneur en argile (moins de 30 %) ;
- les sols intermédiaires, appelés « Faux hollaldé », ont entre 30 et 60 % d'argile.

Pour la culture du riz dans la Vallée du Fleuve Sénégal, les « Hollaldé » et « Faux hollaldé » sont les sols recommandés car ils retiennent mieux l'eau, fixent mieux les éléments nutritifs, et limitent les pertes d'eau par infiltration ainsi que la remontée des sels dans les zones salines (ADRAO/SAED, 2011).

1.4.2. Eau

L'eau est l'élément indispensable pour les différents types de riziculture allant de la riziculture pluviale stricte à la riziculture irriguée. Pour sa bonne croissance, le riz qu'il soit pluvial ou irrigué, a besoin d'un équilibre en eau. Mais, les fortes pluies pendant l'épiaison cause des chutes et l'avortement des fleurs.

1.4.3. Lumière

Le photopériodisme est un élément caractéristique influençant manifestement le cycle végétatif du riz. Cependant toutes les variétés ne réagissent pas de la même manière à la photopériode. Les variétés de type indica, contrairement au type japonica sont photosensibles. Selon Kima (1993), le nombre de talles augmente avec la quantité de lumière tandis que les longues durées de jour retardent ou provoquent l'avortement des panicules.

1.4.4. Température

La température est un facteur climatique indispensable. Pour une bonne croissance, le riz exige une température de 20 à 35°C en moyenne par jour. Le zéro de germination se situe entre 10 à 13°C et au-delà de 45°C, la germination est inhibée (Arraudeau, 1998).

1.5. Importance de la riziculture

La littérature sur la culture de riz est très variée. Selon la classification de Raemakers (2001), la culture du riz se base sur la topographie et le régime hydrique. La répartition des différents types de rizicultures varie globalement en Afrique et particulièrement en Afrique de l'Ouest où la superficie rizicole totale est estimée à plus de 22 millions d'hectares avec une proportion de 51% allouée aux plateaux soit environ 11 millions d'hectares (FAO, 2004). La figure 4 présente les différentes proportions des superficies rizicoles en Afrique Sub-Saharienne (ASS).

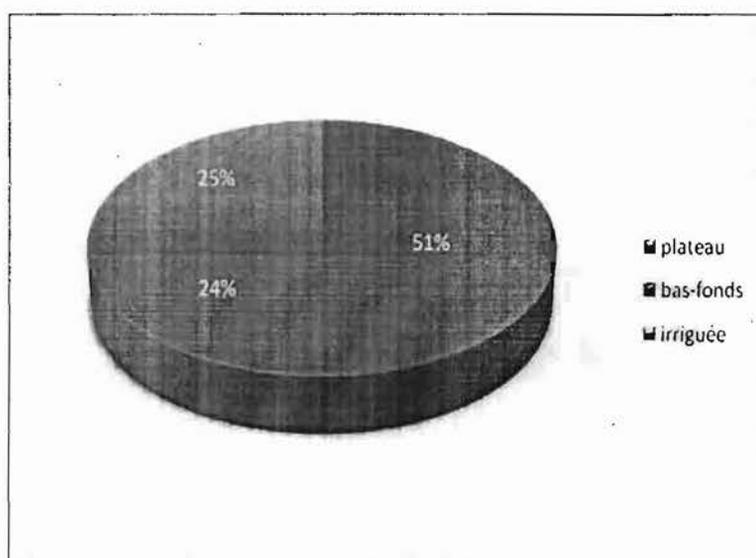


Figure 4: Proportion des superficies rizicoles en Afrique Sub-Saharienne (FAO, 2007).

1.5.1. Types de rizicultures

Le riz est une plante qui consomme beaucoup d'eau. L'eau est utilisée pour l'alimentation, le transport des éléments nutritifs et comme régulateur thermique par le biais de la transpiration. Elle constitue plus de 80 % du poids frais de la plante. On rencontre trois principaux types de riziculture: la riziculture pluviale stricte; la riziculture de bas-fond et la riziculture irriguée.

1.5.1.1. Riziculture pluviale stricte

La riziculture pluviale stricte (Photo1) désigne la culture du riz pour laquelle l'alimentation en eau est uniquement assurée par les eaux de pluie durant tout son cycle végétatif. Si l'eau provient d'une nappe phréatique proche de la surface, on parle de riziculture pluviale sur nappe. Elle est surtout pratiquée sur des sols bien drainés et de bonne capacité de rétention en eau.



Photo 1: Riziculture de plateau

1.5.1.2. Riziculture de bas-fonds

Situés dans les zones basses du paysage, les bas-fonds (Photo2) sont les axes de convergences préférentielles des eaux de surfaces, des écoulements hypodermiques et des nappes phréatiques (Dembélé, 1995). Cette concentration des eaux provenant des versants fait que le risque de stress hydrique pour les cultures est faible dans ces milieux à sols hydromorphes et chimiquement riches.



Photo 2 : Riziculture de bas-fond

1.5.1.3. Riziculture irriguée

La riziculture irriguée (Photo3) est la culture du riz qui s'effectue sur des périmètres irrigués. Ce type de riziculture bénéficie aussi bien des eaux pluviales que des eaux d'irrigations à partir d'une retenue d'eau, d'un barrage ou d'un cours d'eau.

Selon un rapport de l'Organisation des Nations Unies pour Alimentation et l'Agriculture (FAO), l'irrigation dans le monde couvrait 272 millions d'hectares en 1998 soit environ 18% des terres cultivées. En Afrique, seulement 12,5 millions d'hectares soit 6,2% sont irrigués sur un total de 202 millions de terres cultivées. De cette proportion des terres irriguées en Afrique, seulement 5,2 millions d'hectares, soit 3,3% des terres cultivées sont irrigués en ASS.



Photo 3: Riziculture irriguée

1.5.2. Importance socio-économique du riz

Le riz est une des céréales les plus cultivées dans le monde et occupe environ 163,5 millions d'hectares de superficie cultivée avec une production mondiale de 746,4 millions de tonnes (Rice Monitor Market, 2013) figure 5. Le riz est cultivé dans les régions tropicale, subtropicale et tempérée chaude pour ses grains riches en amidon. C'est en effet, la première céréale pour l'alimentation humaine, car elle représente la base de l'alimentation de plus de la moitié de l'humanité (FAO, 2010). Selon le rapport de l'USDA (figure 5), de la campagne 2012/2013, la consommation mondiale du riz blanchi a atteint un record de 468 millions de tonnes. En ASS, de nouvelles hausses de la quantité de consommation y sont attendues traduisant de forte sortie budgétaire pour les pays en déficit de production. En effet, le riz est beaucoup cultivé dans les zones de l'Afrique de l'Ouest et du Centre. L'activité permet d'assurer l'alimentation de près de 20 millions de riziculteurs et emploie plus de 100 millions de personnes en admettant une moyenne de cinq (5) personnes par famille productrice (ADRAO, 2002).

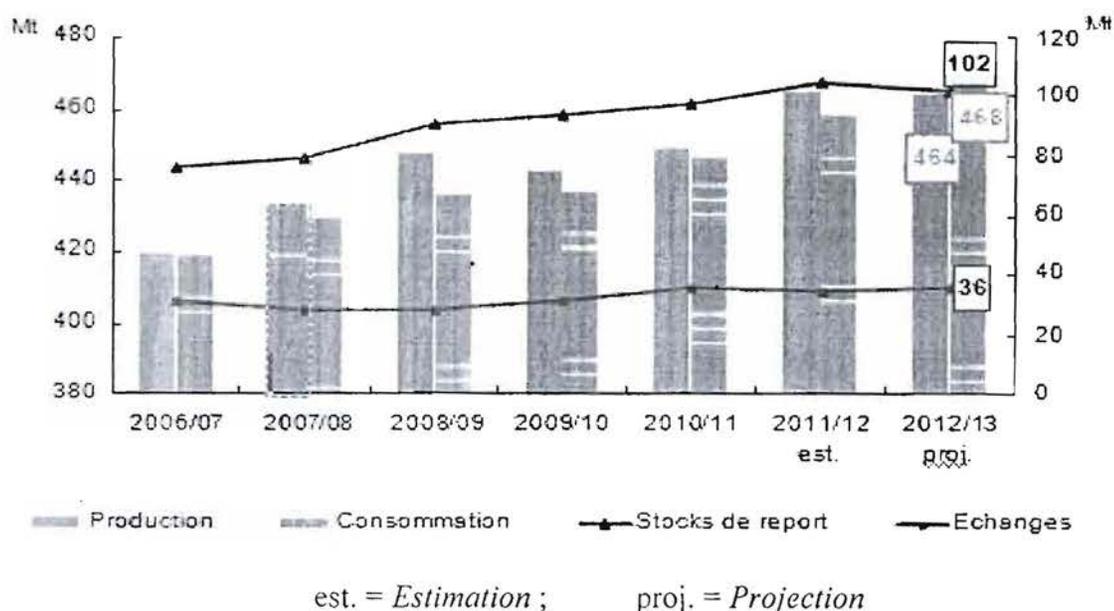


Figure 5 : Evolution de la production, consommation, stocks échanges dans le monde

Chapitre II : Amélioration variétale du riz

2.1. Définition de l'amélioration variétale

L'amélioration des plantes est l'ensemble des méthodes et des techniques destinées à la création des variétés plus productives, mieux adaptées au milieu de culture et de meilleure qualité. Du point de vue génétique, elle correspond à l'ensemble des opérations qui permettent de passer d'un groupe d'individus n'ayant pas certaines caractéristiques au niveau recherché à un nouveau groupe plus reproductible apportant un progrès (Gallais, 2002).

Selon Sié (2004), elle permet de mettre à la disposition de l'agriculteur de nouvelles variétés plus productives, mieux adaptées aux milieux agronomique, physique, biologique, économique et humain. Son objectif principal est l'augmentation de la productivité afin de satisfaire les besoins alimentaires croissants des populations. Ce qui d'ailleurs, détermine les critères de sélection et oriente les travaux de recherche. Sa mise en œuvre repose principalement sur la variabilité génétique. En effet, selon Harlan (1975) cité par Moukoumbi (2001), le sélectionneur est très limité, voire impuissant sans la variabilité génétique. De ce point de vue, l'amélioration variétale est donc une activité dont la réussite repose sur le respect et l'adoption de certains principes à savoir :

- une définition claire des objectifs à atteindre ;
- une meilleure caractérisation des conditions écologiques ;
- une disponibilité des ressources génétiques renfermant les caractères recherchés.

2.2. Objectifs fondamentaux de l'amélioration variétale

Les variétés de riz sélectionnées reposent sur trois (3) critères fondamentalement importants :

- l'augmentation du rendement ;
- la stabilité du rendement ;
- la qualité du grain.

L'augmentation du rendement est la capacité de production lorsque la variété est placée dans les conditions optimales de culture. Le rendement est évalué à partir du nombre de panicules au mètre carré, du nombre de grains pleins par panicule et du poids de 1000 grains.

La stabilité du rendement se traduit par une résistance ou une tolérance des variétés aux variations des facteurs biotiques ou abiotiques dans le temps et dans l'espace.

La qualité du grain est un facteur qui diffère selon les régions et les destinations du produit. Elle doit convenir aussi bien aux producteurs qu'aux consommateurs en tenant compte du format du grain, de son rendement à l'usinage et des préférences organoleptiques du consommateur.

2.3. Définition de la notion de rendement

Le rendement est par définition la quantité de production en grain d'une culture par unité de surface. L'objectif de tout producteur est de maximiser le rendement à un coût économiquement acceptable. C'est un paramètre très complexe déterminé par plusieurs composantes et sensibles aux pratiques culturales, ainsi qu'aux conditions environnementales, climatique et socio-économiques (FAO, 2004).

2.3.1. Caractéristiques du rendement

Le rendement est déterminé par un ensemble de composantes de rendement notamment le nombre de plants par hectare, le nombre de talles par pied, le nombre de panicules par talle, le nombre de grains par panicule et le poids de 1000 grains.

2.3.2. Types de rendement et leurs caractéristiques

La majorité des variétés de riz améliorées ont un rendement potentiel plus élevé (10 à 12 tonnes par hectare) que le rendement réel qui avoisine 6 tonnes à l'hectare en fonction du paysan.

Le rendement potentiel d'une culture est déterminé par les conditions climatiques telles que les températures minimales et maximales, la radiation solaire, les dates de semis et les caractéristiques génétiques des variétés choisies par le producteur. Ce rendement est obtenu à partir des stations expérimentales de recherche et représente le rendement maximal réalisable sans contraintes physiques, biologiques et économiques pour la production de riz. Le rendement réel quant à lui traduit l'interaction « génotype » et « environnement » et les pratiques culturales associées à la culture du riz. Le niveau de rendement observé dépend fortement de variations environnementales. En pratique, les parcelles gérées par les paysans ne peuvent pas obtenir le rendement potentiel de la variété cultivée. En effet, du point de vue économique, le rendement maximum réalisable, est compris entre 70 et 80% du rendement potentiel. Par conséquent, le rendement réel obtenu par le paysan est souvent beaucoup plus faible à cause de certains facteurs limitant tels que (l'azote) et/ou le manque d'eau, les

mauvaises herbes, les maladies et les ravageurs. Entre ces différents niveaux de rendement se situent des écarts de rendement. Il existe trois types d'écarts de rendement (figure6).

- L'écart 1 : représente l'écart situé entre le rendement du producteur moyen et celui du meilleur paysan ;
- L'écart 2 : correspond à la différence entre le rendement réel et le rendement du meilleur paysan.
- L'écart 3 : est la différence entre le rendement potentiel et le rendement réel.

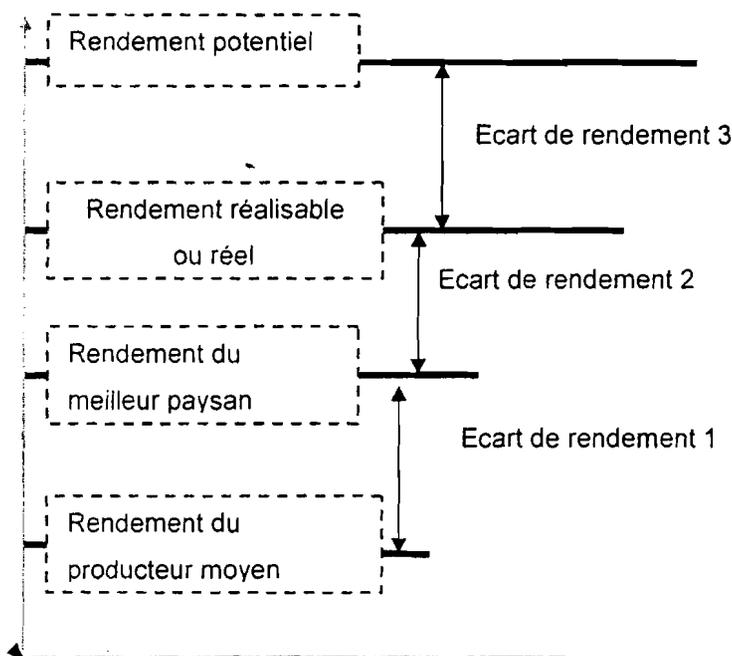


Figure 6: Types d'écarts de rendement (FAO, 2004)

2.3.3. Principe d'élaboration des composantes de rendement

Comme précisé plus haut, le rendement est déterminé par un ensemble de composantes appelées composantes de rendement. Ces composantes de rendement se résument au nombre de plants par hectare, nombre de tiges par plant, nombre de panicules par tige, nombre de grains par panicule et poids de 1000 grains. Le rendement grain est évalué suivant la formule proposée par Lacharme (2001):

$$RDT = NP/ha \times NT/P \times NPa/T \times Ng/Pa \times Pg$$

NP : Nombre de plants

P : Plant

NT : Nombre de talles

NPa: Nombre de panicules

Ng: Nombre de grains

Pa: Panicule

Pg : Poids de grains

Les composantes de rendement (tableau 3) sont élaborées tout au long du cycle de culture de la plante de riz. Elles sont largement influencées par les conditions du milieu, les techniques culturales et la variété. Le rendement final de la culture dépendra enfin de la rapidité de la moisson. Les retards de moisson peuvent induire des pertes considérables sur le rendement final de l'ordre de 30% (Lacharme, 2001).

Tableau 3 : Phases d'élaboration des composantes de rendement

Composante du rendement	Phase d'élaboration de la composante
Nombre de plants/m ² (NP)	Germination-Levée
Nombre de talles par pieds (NT)	Début tallage-Fin tallage
Nombre de panicules par talle (NPa)	Fin tallage-Début montaison
Nombre de grain par panicule (Ng)	Montaison-Epiaison-Fécondation
Poids d'un grain (Pg)	Remplissage du grain-Maturation

2.4. Caractérisation : Outils de l'amélioration variétale

La caractérisation est un procédé qui permet de connaître la diversité génétique des individus et de les classer à partir des analyses qui tiennent compte des critères tels que les caractères morphologiques, agronomiques, écologiques et moléculaires. L'évaluation des caractères agronomiques et morpho-physiologiques des individus est beaucoup plus influencée par les facteurs environnementaux tels que les conditions de culture, les paramètres climatiques, les maladies, les ravageurs, etc. On distingue deux principaux types de caractérisations à savoir la caractérisation phénotypique et la caractérisation moléculaire.

2.4.1. Caractérisation phénotypique

La variabilité peut s'exprimer sous diverses formes en caractères visibles ou non. Elle traduit l'expression de caractères observables. Dans le processus de caractérisation phénotypique, pour la mesure de la variabilité du groupe, il convient de sélectionner des caractéristiques ou descripteurs qui soient les plus discriminants possibles. Un descripteur végétal est une caractéristique identifiable et quantifiable d'une espèce. Les descripteurs agromorphologiques peuvent être qualitatifs ou quantitatifs et incluent des caractères botaniques et taxonomiques. Cependant, les caractères phénotypiques ont des limites dues au fait qu'ils sont gouvernés par un ou plusieurs gènes.

2.4.1.1. Création des nouveaux types de riz

Dans les années 1990, l'Institut International de Recherche sur le Riz (IRRI) à partir du sous groupe « bulu », avait choisi les variétés du groupe japonica d'Indonésie comme matériels de départ pour le programme de création du nouveau type de plante *New Plant Type (NPT)* pour ses caractéristiques. L'objectif était de passer d'un pool génétique indica bien connu à un pool génétique japonica qu'ils avaient jusque là peu exploré. La première génération de NPT fut obtenue en 1991, celle-ci possédait de panicules larges, moins de talles infertiles, un rendement grain faible, faible remplissage des grains et une sensibilité aux maladies et aux insectes.

En 1995, ces caractères ont été améliorés en croisant les japonica NPT première génération par un parent de type indica. Il en résulte des lignées ayant des panicules réduites, un bon tallage et une résistance aux maladies et aux insectes (Peng *et al.*, 2008). La variété IR72967-12-2-3 de la deuxième génération des NPT avait un rendement potentiel de l'ordre de 10,16 t/ha, plus significatif que le témoin positif PSBRc52. Selon le même auteur, la réduction de la panicule et la forte capacité de tallage sont des caractères introgressés du parent indica.

Par ailleurs, la sélection du « super riz » ou la création d'hybrides F_1 fut une autre méthode utilisée pour augmenter le rendement potentiel du riz irrigué. Elle a consisté à combinaison de l'approche des idéotypes en exploitant l'effet hétérosis interspécifique. Ces hybrides obtenus rassemblent de bonnes composantes de rendement notamment la longueur des panicules et une bonne assimilation chlorophyllienne pour le remplissage des grains acquis des NPT de l'IRRI.

Selon Courtois (2007), les hybrides F_1 ont un rendement additionnel en moyenne de 1 t/ha de par rapport aux lignées pures à cause de l'accroissement de la biomasse de la plante, du nombre de grains par panicule et du poids de mille grains. Cependant, l'exploitation et l'accessibilité à ces matériels constituaient des limites au niveau des paysans qui ont des ressources limitées. En effet, les paysans doivent acheter des semences de nouvelles technologies en début de chaque campagne de culture afin de maintenir le potentiel de rendement. La combinaison des méthodes et techniques de la sélection conventionnelle et l'usage des outils de la biotechnologie ont été adoptés ces dernières années dans le processus de création variétale. Les variétés de riz appelées Nouveau Riz pour l'Afrique (NERICA) de plateau mise au point par le Centre du Riz pour l'Afrique (AfricaRice) ont été obtenues après la culture d'anthere réalisée sur la première génération presque stérile (Sarla et Swamy, 2005).

2.4.2. Caractérisation moléculaire

Un marqueur moléculaire est un locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Un marqueur idéal doit renfermer les principales caractéristiques à savoir être polymorphe, discriminant, à hérédité simple, multiallélique, co-dominant et reproductible d'une expérience à une autre. Le développement des marqueurs moléculaires durant cette dernière décennie a permis d'entreprendre de nouvelles approches pour améliorer les stratégies de sélection (Najimi *et al.*, 2003 cités par Moukoumbi, 2012). Ainsi, ils sont devenus un outil essentiel dans les programmes de sélection de nouvelles variétés de riz (*Oryza sp.*) pour les résistances aux stress biotiques et abiotiques.

2.4.3. Principaux marqueurs

2.4.3.1 Marqueurs biochimiques

Les plus courants de ces marqueurs génétiques, selon une terminologie consacrée sont les marqueurs morphologiques, moléculaires (ADN) et biochimiques (isozymes, protéines). Ce dernier terme est ambigu, puisqu'il caractérise dans certains contextes, des molécules dont la présence indique un stade de différenciation ou un état physiologique. Chez le riz, de nombreux travaux de caractérisation ont été effectués. Ils ont permis d'identifier des groupes à partir des caractères morphologiques, physiologiques et agronomiques. Jacquot et Arnaud (1979) cités par Sié (1989) se sont particulièrement intéressés au riz pluvial d'Afrique et d'Amérique latine. Ils ont montré à l'aide des marqueurs isozymiques que ces variétés forment un ensemble distinct. Par les techniques de biologie moléculaire, plusieurs outils ont

été développés, permettant d'obtenir directement à partir des marqueurs polymorphes de l'ADN des plantes. Les plus utilisés sont les marqueurs de type Polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADN (RFLP), Polymorphisme à amplification arbitraire de l'ADN (RAPD), Polymorphisme d'amplification de fragments de d'ADN (AFLP), les microsatellites ou Simple Sequence Repeat (SSR) et les marqueurs Single Nucleotide Polymorphism (SNP).

2.4.3.2 Marqueurs à polymorphisme d'amplification arbitraire

Le « Random Amplified Polymorphic DNA » (RAPD) est une amplification par PCR en utilisant une amorce de séquences arbitraires de 9 à 10 paires de bases (Williams *et al.*, 1990). Cette amorce permet généralement l'amplification d'une dizaine de fragments correspondant à des loci dominants. Les produits d'amplification peuvent être visualisés par électrophorèse sur gel d'agarose. Rana *et al.* (1999) ont utilisé les marqueurs de type RAPD sur douze (12) variétés de riz dont trois (3) variétés Basmati, huit (8) non basmati et un (1) Japonica afin d'évaluer le polymorphisme pour les traits tels que le rendement grain, la qualité grain et d'autres traits agronomiques. De plus les travaux de Xiao *et al.* (1996) ont consisté à étudier huit (8) traits agronomiques y compris le potentiel de rendement sur 45 hybrides F₁ et 10 variétés parents dont 6 Japonica et 4 indica. Les distances génétiques mesurées en utilisant les marqueurs RAPD ou SSR peuvent être utiles à la prédiction du potentiel et l'hétérosis des espèces hybrides intra-spécifiques.

2.4.3.3 Polymorphisme de longueur de fragment de restriction

Le polymorphisme de longueur de fragment de restriction ou marqueur « Restriction Fragment Length Polymorphism » (RFLP), est caractérisé par la digestion de l'ADN au moyen d'enzymes de restriction. La séparation est fonction de la taille des fragments et la visualisation est obtenue par électrophorèse. Huihui *et al.* (2011) ont réalisé une comparaison des performances des QTL en utilisant les marqueurs de type SNP sur des lignées isogéniques (NILs) caractérisées du point de vue moléculaire par les marqueurs RFLP/SSR; trois paramètres de rendement ont été l'objet de cette analyse. L'étude conclut que la cartographie des SNPs offrait plus de précision que celle basée sur les RFLP/SSR.

2.4.3.4. Polymorphisme de longueur de fragments d'amplification.

Ce polymorphisme de longueur traduit en anglais par Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP) est révélé par amplification PCR d'ADN génomique après digestion avec deux enzymes de restriction et ligation d'un adaptateur d'environ 20 paires de bases (Vos *et al.*, 1995). Le principe repose sur la mise en évidence simultanée de polymorphisme de site de restriction et polymorphisme d'hybridation d'une amorce de séquence arbitraire

2.4.4. Marqueurs de types microsatellites

Les microsatellites ou Simple Sequence Repeat (SSR) sont constitués de séquences de di-, tri- ou tétra-nucléotides répétées en tandem. Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présentent un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite. Les séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisés pour l'amplification PCR. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide. C'est la paire d'amorces spécifiques des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur.

2.4.4.1. Importance et avantages des marqueurs SSR

Les séquences de marqueurs microsatellites correspondent à des séquences d'ADN répétées en tandem comprenant un motif de base de quelques nucléotides (2 à 5 paires de base). Elles sont extrêmement nombreuses, dispersées dans l'ensemble du génome et présentes chez tous les eucaryotes étudiés. Elles sont généralement très polymorphiques et présentent l'avantage d'utiliser la réaction de polymérisation en chaîne ou « *Polymerase Chain Reaction* » (PCR). Deux amorces (*forward* et *reverse*) s'apparient au niveau des zones spécifiques (exon par exemple) et encadre un intron ou un espaceur intergénique afin d'augmenter la probabilité d'observer du polymorphisme. La visualisation du polymorphisme peut se faire soit directement (polymorphisme de longueur) ou soit par digestion (mutation ponctuelle) après électrophorèse et coloration.

2.4.4.2. Principales contraintes des marqueurs SSR

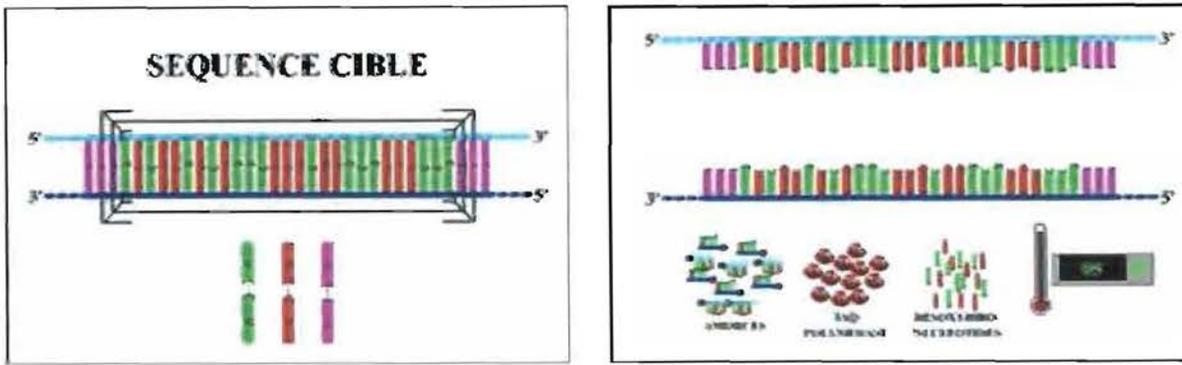
Dans la mise en place des marqueurs, l'objectif est de définir des exigences élevées en ce qui concerne la qualité des marqueurs et l'intérêt de générer des données reproductibles à l'aide de ces marqueurs. Etant donné que des situations où le matériel ou les réactifs chimiques peuvent varier, des précautions particulières doivent être prises pour assurer la qualité des données saisies dans la base de données. Les techniques moléculaires qui s'appliquent aux profils des variétés sont limitées par le fait que les données doivent pouvoir être répétées, reproductibles et cohérentes. Ainsi, si les diverses techniques de profils d'ADN à locus multiples ont été un succès pour la recherche, il demeure difficile de réunir à travers ces techniques, la codominance et la reproductibilité des configurations de bandes entre laboratoires utilisant des équipements différents qui risque d'être problématique. Si les SSR constituent de bons marqueurs moléculaires (reproductibles, codominants et aisés d'utilisation), leur caractérisation initiale est toutefois assez lourde. En effet, leur production doit passer d'abord par le clonage et le séquençage de ces éléments répétés (Morgante et Olivieri, 1993).

2.4.4.3. Principe de réaction de polymérisation en chaîne

Le principe de Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) est une technique qui consiste à réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brin d'ADN. Chaque réaction met en œuvre deux amorces ou « primers » constitués de courtes séquences nucléotidiques qui définissent, en la bornant, la séquence à amplifier, des bases nucléotidiques (dNTP) et une enzyme : la Taq polymérase. Chaque réaction s'effectue en trois étapes (figure 7) à savoir:

- dénaturation de l'ADN à 95°C afin d'obtenir des matrices simple brin à travers la rupture des liaisons hydrogènes suivie de l'écartement des brins dénaturés ;
- hybridation des amorces de part et d'autre des séquences complémentaires de l'ADN dénaturé ou amplifié. Elle se réalise à une température comprise entre 40°C et 65°C ;
- polymérisation du brin complémentaire ou élongation à une température optimum de 72°C.

1- Dénaturation de l'ADN



2- Hybridation des amorces et 3- Elongation de la chaîne

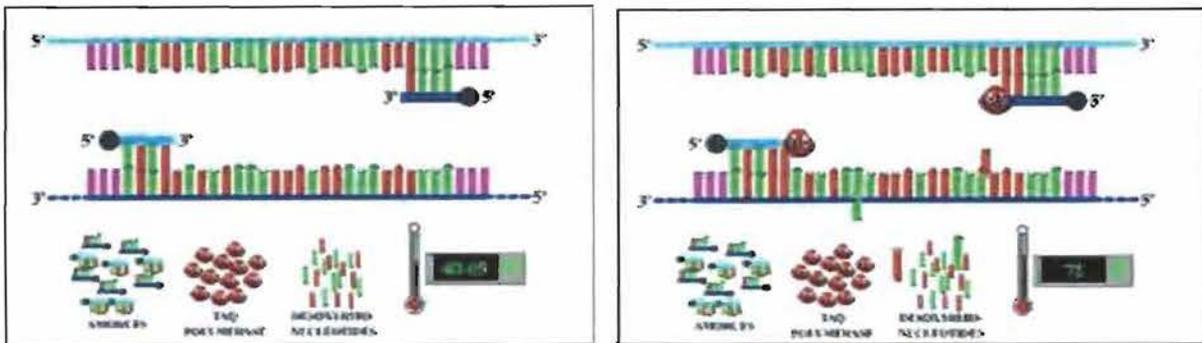


Figure 7 : Principe de la PCR, processus d'amplification de l'ADN

2.4.3.4. Marqueurs à polymorphismes d'un seul nucléotide

Les polymorphismes d'un seul nucléotide ou Single Nucleotide polymorphism (SNP) sont des variations des nucléotides simples qui ne changent pas la longueur globale de la séquence d'ADN dans la région. Ils se produisent partout dans le génome. Ils sont très abondants et représentent 90 % de l'ensemble des variations génétiques de l'individu. Les SNP ont une fréquence allélique supérieure à un pour cent et sont présents toutes les 100 à 300 paires de bases en moyenne dans le génome végétal, où deux SNPs sur trois substituent la cytosine avec la thymine. Ils sont révélés par des techniques rapides de marquage moléculaire, PCR et électrophorèse rapide, en perpétuelle évolution (Santoni *et al.*, 2000). La plupart des SNP sont localisés dans les régions non codantes et n'ont aucun impact direct sur le phénotype d'un individu.

2.4.4. Importance de l'utilisation des marqueurs moléculaires dans l'amélioration variétale

Pour améliorer des variétés de riz par rapport à un caractère spécifique, ce dernier doit être bien identifié. Pour le cas des caractères qualitatifs (couleur, forme, etc), un seul gène gouverne leur expression. L'expression d'un ou plusieurs caractères quantitatifs (rendement, hauteur de la plante, etc.) résulte de l'action conjuguée de plusieurs gènes. Les régions chromosomiques impliquées dans l'expression de ces caractères quantitatifs appelés couramment « *Quantitative Trait Loci* (QTL) » sont localisables sur une carte génétique à travers des méthodes statistiques, et repérées par des marqueurs moléculaires. Lorsque les QTLs et les marqueurs associés sont identifiés, le sélectionneur peut isoler les plantes intéressantes dans la descendance d'un croisement en se basant sur la présence des marqueurs moléculaires liés aux QTL/gènes contrôlant les caractères recherchés.

Le recours à la biologie moléculaire est une alternative utilisant des QTLs découverts sur les douze (12) chromosomes du génome du riz. Weng *et al.* (2008) sont parvenus à mettre en évidence plusieurs gènes régulant la productivité du riz, plus particulièrement, ceux contrôlant la taille, le poids et le nombre de grains par panicule. De nombreuses études ont permis d'identifier de nombreux gènes relatifs au rendement et composantes de rendement tels que le poids de grains « GW5 » (Li *et al.*, 2011), la taille des grains « GS3 » (Li *et al.*, 2011 et Wang *et al.*, 2010), le nombre de grains par panicule « Gn1a » (Miura *et al.*, 2010) et panicule lourde et des tiges fortes « SCM2/APO1 » (Ookawa *et al.*, 2010).

Plusieurs gènes ont été introgressés dans différents types de lignées (NILS, RILs etc.). En effet, les travaux de Zong *et al.* (2012) ont montré que les 150 lignées recombinantes (RILs) ont introgressé les huit QTLs associés aux deux composantes de rendement tel que le poids de 1000 grains et le nombre d'épillets. Wang *et al.* (2010) ont mis en évidence que les gènes GS3 sont associés à l'augmentation de rendement du riz. Sur 287 variétés de riz asiatique et africain, les amorces SR17, RGS1 et RGS2 utilisées ont révélé un polymorphisme entre elles. Les résultats de CIAT-FLAR sur l'évaluation des lignées recombinantes F₇ par rapport aux composantes de rendement tel que le nombre de grains (Gn1a) ont montré que les variétés IR64 *sub1* et la variété 1856 avaient un grand nombre de panicules au mètre carré avec respectivement 802 et 749 panicules. Pour le poids de mille grains, la variété 2027 est retenue avec 28,22 g soit un rendement de 12 t/ha contre 10t/ha pour le témoin (IR64 *sub1*).

DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES

Chapitre III : Présentation de la structure d'accueil et méthodologie de l'étude

3.1. Description de la structure d'accueil

Le Centre du riz pour l'Afrique (AfricaRice) est une organisation intergouvernementale de recherche panafricaine (AfricaRice, 2013). L'Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest (ADRAO) a été créée en 1971 par 11 Etats africains sous le parrainage de la Commission Economique pour l'Afrique (CEA), du Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD) et Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) (ADRAO, 1995). Le Conseil des Ministres de ses états membres en 2009 a officiellement rebaptisé ADRAO par Centre du Riz pour l'Afrique (AfricaRice). AfricaRice fait partie des 15 Centres internationaux de recherche agricole qui sont membres du Consortium du Consultative Group on International Agricultural (GCRAI). AfricaRice compte aujourd'hui 25 pays membres à travers les régions de l'Afrique de l'Ouest, du Centre, de l'Est et du Nord. Son siège officiel est à Bouaké (Côte d'Ivoire). Il est basé temporairement à Cotonou au Benin. Il compte en plus de la station de Bouaké plusieurs stations régionales de recherche : Ibadan (Nigeria), Saint-Louis (Sénégal), Dar-Es- Salaam (Tanzanie), et des antennes à Monrovia (Libéria), à Freetown (Sierra Leone) et à Abuja (Nigeria).

3.1.1. Mission d'AfricaRice

La mission principale de AfricaRice est de contribuer à l'allègement de la pauvreté et à la sécurité alimentaire en Afrique, à travers des activités de recherche, de développement et de partenariat visant à améliorer la productivité et la rentabilité du secteur rizicole, tout en veillant à la durabilité du milieu de production (AfricaRice, 2013).

3.1.2. Présentation de la station expérimentale de Ndiaye

Le centre régional de Saint Louis est situé à 35 km dans un village appelé Ndiaye (16°14'N, 16°14'O et 9 m d'altitude) de la ville de Saint-Louis sur la Nationale n°2 au Nord du Sénégal. La station dispose de deux fermes expérimentales situées à Ndiaye (dans le delta) et à Fanaye (dans la moyenne vallée) et est équipée de quatre (4) laboratoires de recherche : sol, qualité de grain, amélioration variétale et sélection et biotechnologie dans lequel la présente étude a été conduite.

3.2. Méthodologie de l'étude

3.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est composé de 600 lignées en disjonction de génération F₂ issues de 6 croisements entre 10 variétés parents de fort potentiel de rendement soit 100 lignées par croisement. Ces lignées ont été cultivées en condition irriguée à Ndiaye et aérobie à Fanaye (Tableau 1).

Tableau 4 : Liste des croisements

N°	Nom du croisement	Ecologies	Rendement Potentiel (T/ha)	
			Parent 1	Parent 2
1	FKR 19*/IR55423-01**	Aérobie	5	4-5
2	Kogoni91-1*/IR55423-01**	Aérobie	5	4-5
3	BG90-2*/IR55423-01**	Aérobie	8	4-5
4	WITA4*/IR64 Sub1**	Irriguée	8	7
5	NERICA-L-19*/IR8**	Irriguée	9	8
6	NERICA-L-20*/Giza 178**	Irriguée	9/	10

* : correspond au parent 1 ; ** : correspond au parent 2 ; IR55423-01= Apo

3.2.2. Méthodologie

3.2.2.1. Collecte des feuilles et préparation des échantillons

Cinq (5) grammes de semences de chaque variété ont été semés dans une serre (25°C, taux d'humidité de 50 à 86%). Deux à trois feuilles de poids environ de 15 à 20 grammes sont prélevées manuellement sur chaque variété. Les feuilles prélevées sont conservées dans des enveloppes adaptées et maintenues dans une glacière à température de -20°C environ. Avant l'extraction, les feuilles collectées sont découpées finement et introduites dans des tubes Eppendorf de 2 ml l'aide des ciseaux délicatement nettoyés avec de l'éthanol à 70°C pour éviter toute contamination en passant d'une variété à l'autre. Deux billes argentées sont ajoutées à chaque tube pour faciliter le broyage au GenoGrinder (figure 8). Chaque tube contient une variété et le numéro ou le nom correspondant.

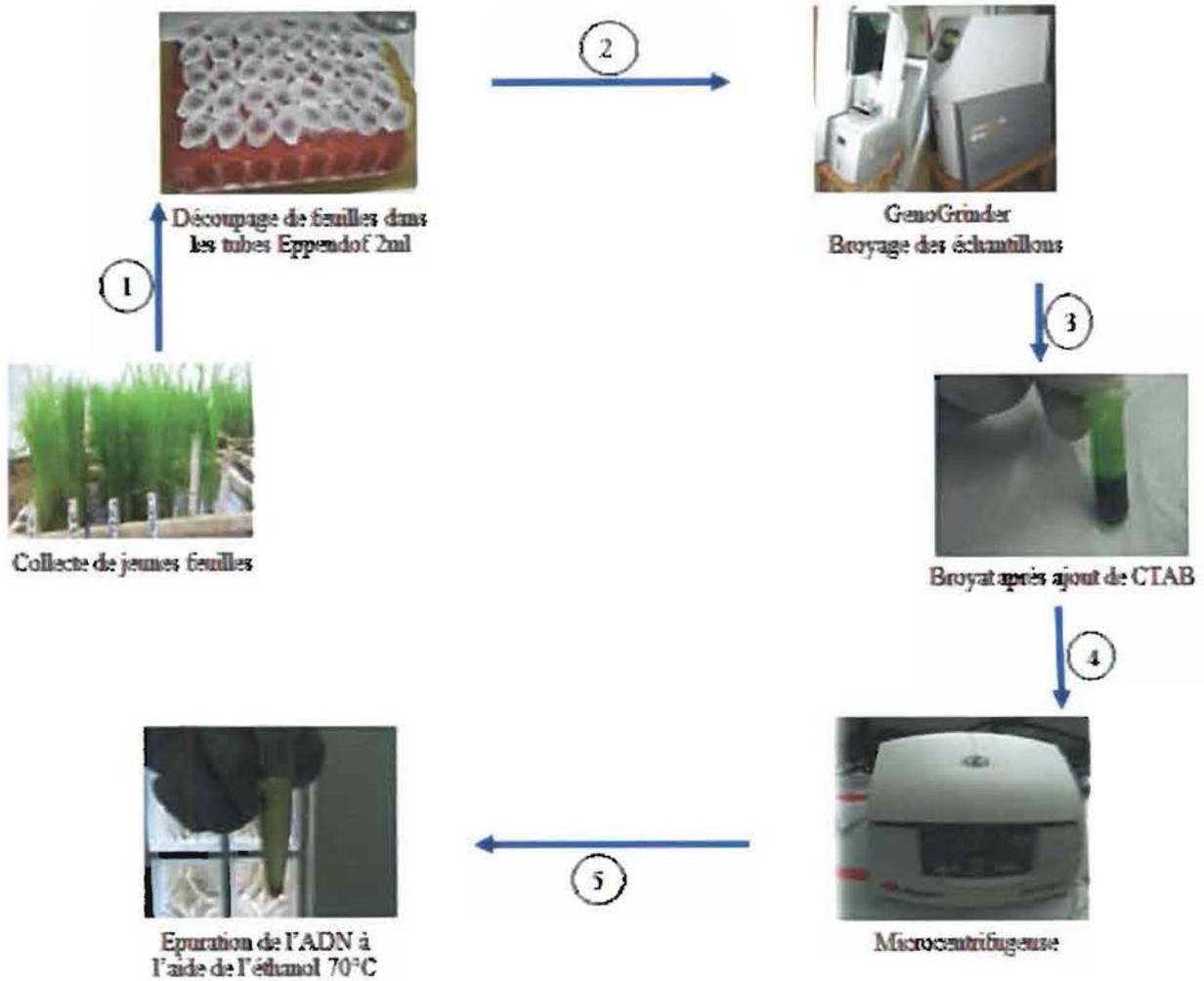


Figure 8 : Préparation des échantillons et processus d'extraction d'ADN

3.2.3. Extraction d'ADN

Les feuilles finement découpées dans des tubes sont placées sur une plaque et disposées dans un broyeur automatique de type GenoGrinder (*Spex Sampleprep 2010*) qui va assurer le broyage pendant huit minutes. Le processus d'extraction de l'ADN (figure 8 ci-dessus) a été réalisé suivant la méthode de CTAB modifiée (annexe 1), qui est utilisée au laboratoire de biotechnologie végétale du Centre du riz pour l'Afrique au niveau de la station du sahel. Le tampon CTAB (Cetyltriméthylammonium bromide) est ajouté au bain Marie à 65°C puis la solution de chloroforme est ajoutée au broyat obtenu du GenoGrinder pour le piégeage des débris et la libération de l'ADN des cellules. La centrifugation a pour rôle la séparation des débris de la solution aqueuse contenant l'ADN. La dernière phase consiste à la purification de l'ADN à l'aide de l'éthanol 70°C.

3.2.3.1. Quantification et la qualité de l'ADN

A la fin de l'extraction, l'ADN obtenu peut être soumis à un test pour vérifier la qualité et la quantité de celui-ci. La quantification et la qualité de l'ADN peuvent être testées de deux manières soit sur gel d'agarose 1% ou à l'aide d'un spectrophotomètre aux rayons UV. Des normes standards définies permettent de déterminer la quantité et la qualité de l'ADN.

3.2.3.2. Choix des amorces

Le caractère polygénique, les marqueurs identifiés et associés aux QTLs liés aux composantes de rendements ont été utilisés pour l'étude. En effet, le poids des grains (GW5), la taille des grains (GS3), le nombre de grains (Gn1a) et SCM2/APO1 qui représente la caractéristique de tige forte à panicule lourde développé ont permis de caractériser les lignées en disjonction (Tableau 5).

Tableau 5: Marqueurs moléculaires associés aux QTLs relatifs aux composantes de rendement

Composantes de rendement	N°	Marqueurs associés	Chromosomes	Source
Poids des grains GW5	1	gw5-9311-5724000-5730000; Prdt 254 & 1465	5	Xing et Zang (2010); Li <i>et al.</i> , 2011
	2	gw5-9311-2225-2325;3540-3640; Prdt 151 & 1362	5	
	3	gw5-9311-2225-2325;3931-4031;Prdt 530 & 1741	5	
Taille de la graine GS3	4	SR17-InDel	3	Xing et Zang 2010 ; Li <i>et al.</i> , 2011; Wang <i>et al.</i> , 2010
	5	RGS1-SSR1	3	
	6	RGS2-SSR2	3	
Nombre de grain par panicule Gn1a	7	Gn1a-SSR2-00	1	Miura <i>et al.</i> , 2010
	8	Gn1a-SSR2-01	1	
	9	Gn1a-SSR1-01	1	
	10	Gn1a-SSR1-03	1	
Tige forte et panicule lourde	11	SCM2-RM20559	6	
SCM2/APO1	12	SCM2-3628-60	6	Ookawa <i>et al.</i> , 2010
	13	SCM2-3628-55-03	6	
	14	SCM2-3628-55-04	6	
	15	SCM2- SSR-gcggga-03	6	
	16	SCM2- SSR-gcggga-05	6	

3.2.4. Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR)

Au préalable, 50µl d'ADN extrait sont dilués dans 150µl d'eau distillée (ddH₂O). Un mélange réactionnel ou mix de 10 µl (tableau 6) est utilisé pour l'amplification de l'ADN à travers PCR à l'aide d'un thermocycleur (figure 10).

Tableau 6: Composition du mix utilisé

N°	Réactifs	Quantité (10 µL)
1	DNA	2µL
2	désoxyribonucléosides triphosphates (dNTPs)	1µL
3	dichlorure de Magnésium (Mgcl ₂)	0,3µL
4	Taq polymerase (enzyme)	0,2µL
5	de tampon 10xBuffer	1µL
6	Marqueurs (reverse and forward)	0,5µL
7	ddH ₂ O	4,5µL

La PCR se déroule en 3 phases et à des températures différentes qui permettent de contrôler l'activité enzymatique. Les microtubes contenant le mix sont placés dans un thermocycleur (*G.Strom*) (Figure 9) qui assure l'amplification de l'ADN en fonction du programme choisi par rapport à l'objectif de l'étude. En effet, les phases de l'amplification sont réalisées à des températures variables : la phase de dénaturation s'effectue à 94°C pendant 30 secondes, l'hybridation des amorces se fait à 55°C pendant 30 secondes et l'élongation requiert une température de 72°C durant 45 secondes. L'amplification se termine par une élongation finale à 72°C pendant 5 mn. La PCR dure en moyenne entre deux (2) et trois (3) heures de temps pour une moyenne de 35 cycles par réaction. Le programme « TD Wang 2010 » a été choisi pour l'amplification de l'ADN. Ce programme est le mieux indiqué pour les marqueurs de fort potentiel de rendement. Il permet d'amplifier l'ADN pour 35 cycles pendant 1 heure 45 mn.

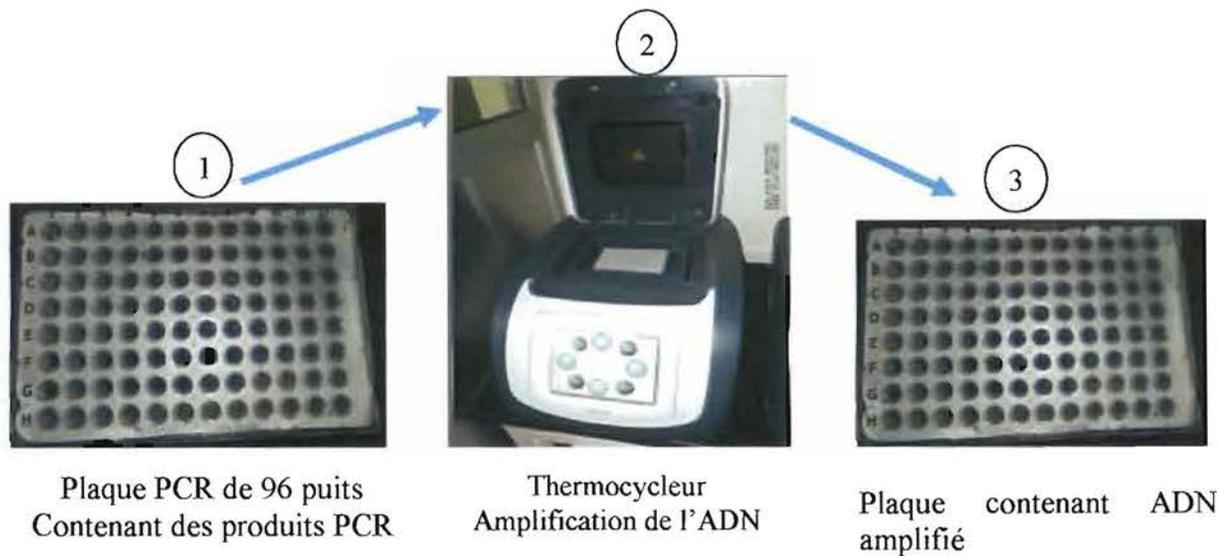


Figure 9 : Préparation de l'ADN et son amplification

3.2.4.1 Electrophorèse

Pour la réalisation de la migration, 3 μ l de bleu de bromophénol (tampon de charge 10%) sont préalablement ajoutés à l'ADN amplifié. Une quantité de 4 μ l de l'ADN amplifié sont déposées dans les puits du gel de polyacrylamide 8% dans un tampon 10X TBE (annex 2).

La migration se déroule dans du tampon 1X TBE dans une cuve à électrophorèse (Photo4). La cuve est soumise à une tension électrique à voltage constant de 100 V (*CBS Scientific Eps.300X*) pendant 2 à 4 heures selon la taille de l'amorce. Un marqueur témoin appelé DNA-ladder de 100 poids moléculaire connu est déposé simultanément que les produits PCR.



Photo 4: Cuve à électrophorèse (DAO ; 2013)

3.2.4.2 Lecture des gels

La visualisation des bandes de l'ADN se fait sous rayon UV après trempage du gel dans du Bromure d'Ethidium (BET), qui s'intercale entre les nucléotides. Bromure d'Ethidium en s'intercalant entre les nucléotides favorise l'effet fluorescent sous les rayons UV. La capture de l'image est réalisée à partir de l'appareil UVP Multi.doc.It (*Digital Imaging System*) gel-doc mini d'un logiciel de capture et qui est couplé à un ordinateur (Photo5).

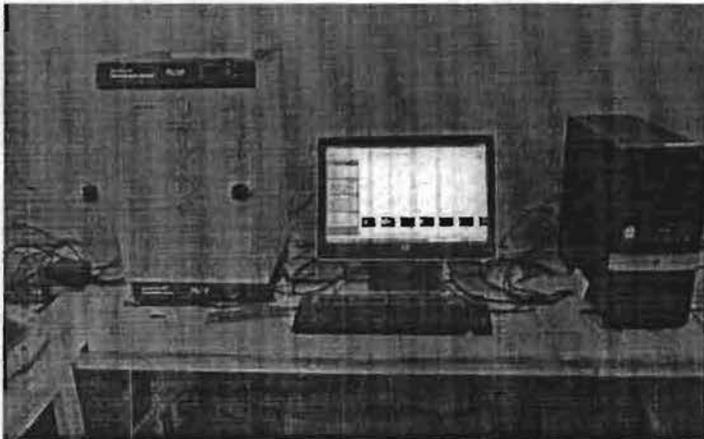


Photo 5: Gel doc et ordinateur (DAO ; 2013)

L'encodage des données a été réalisé suivant les normes ci-dessous :

- A pour l'allèle du parent 1 ;
- B pour l'allèle du parent 2 ;
- H pour la présence des deux allèles parentaux (hétérozygotes) ;
- E pour les allèles non parentaux ;
- M pour les données manquantes.

3.3.3. Analyse des données

Les proportions d'introgression des allèles du parent 1 et du parent 2 chez les lignées en disjonction F_2 ont été calculées à l'aide du logiciel Excel et mises en évidence à partir du logiciel Graphical GenoTypes (GGT) <http://www.dpw.wau.nl/pv/pub/ggt>, afin de déterminer les fréquences alléliques.

L'arbre phylogénétique a été réalisé suivant la méthode de Neighbor Joining à partir des distances euclidiennes obtenues par le logiciel GGT et a permis la classification des lignées en disjonction, aux meilleures de leurs performances, en fonction de chaque composante de rendement.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

Chapitre IV : Résultats et discussion

4.1. Résultats

4.1.1. Identification des allèles parentaux au sein des différentes populations

Dans le cadre de cette étude portant sur le fort potentiel de rendement, les variétés utilisées présentent un fort potentiel de rendement. Ainsi, le choix du parent portant « l'allèle d'intérêt » se réfère à l'allèle du témoin positif utilisé c'est-à-dire les variétés traditionnelles renfermant le gène d'intérêt. La variété IR24 symbolise le poids des grains (GW5) et la taille du grain (GS3). Les variétés Kasalath et Nipponbare renseignent sur la présence de l'allèle « poids de grains (GW5) ». Enfin, la variété Koshihikari renferme les allèles « nombre de grains (Gn1a) et « la caractéristique de tige forte panicule lourde (SCM2/APO1) ». Les résultats sont présentés par écologie et pour chaque croisement.

4.1.2. Populations cultivées dans les conditions de riziculture aérobie

La comparaison des bandes des variétés parents à ceux des témoins identifiés (Tableau 7), montre pour le croisement BG90-2/Apo, que le parent donneur est le parent Apo (IR55423-01) pour l'ensemble des marqueurs utilisés. Dans le croisement Kogoni 90-1/IR55423-01, les deux parents portent l'allèle. En effet, les marqueurs associés aux descripteurs GW5 et GS3 montrent que la variété Kogoni 90-1 est le parent donneur de l'allèle « A » en se référant aux variétés IR24 et Nipponbare qui sont les témoins de ses descripteurs. Pour le reste des marqueurs tels que Gn1a et SCM2/APO1, c'est le parent Apo qui est donneur de l'allèle d'intérêt « B » en se référant au témoin Koshihikari. De plus, au sein du croisement FKR19/Apo, pour les marqueurs associés aux poids de grains (GW5-3) et à la taille des grains (RGS1-SSR1), les lignées issues de ce croisement ont pour parent donneur Apo (IR 55423-01) avec l'allèle « A » en se référant aux témoins IR24 et Nipponbare. De même, pour les lignées évaluées par les marqueurs GW5-2 et RGS2-SSR2, le parent donneur est FKR19 avec l'allèle « A ». En ce qui concerne les marqueurs Gn1a et SCM2/IR55423-01, la variété Koshihikari a permis de définir la variété Apo comme la variété donneuse de l'allèle « B ».

Tableau 7 : Identification de l'allèle du parent donneur pour les populations en condition de riziculture aérobie

N°	Croisement 1						Croisement 2						Croisement 3					
	BG90-2	IR55423-01	IR24	Nipponbare	Kasalath	Koshihikari	Kogoni	IR55423-01	IR24	Nippon bare	Kasalath	Koshihikari	FKR19	IR55423-01	IR24	Nipponbare	Kassalath	Koshihikari
1	A	B	B	B	B	-	A	-	A	-	A	-	-	-	-	-	-	-
2	A	A	A	A	A	-	A	B	-	A	-	-	A	B	-	A	-	-
3	A	B	B	B	B	-	-	-	-	-	-	-	A	B	-	B	-	-
4	A	B	A	B	A	-	A	B	A	-	-	-	A	A	-	-	-	-
5	A	B	B	-	-	-	A	B	B	-	-	-	A	B	B	-	-	-
6	A	B	B	B	B	-	A	B	A	-	-	-	A	A	A	-	-	-
7	A	B	-	-	-	-	A	B	-	-	-	B	A	B	B	B	B	B
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	A	B	-	-	-	B	A	B	-	-	-	B	A	A	-	-	A	A
10	-	B	-	-	-	B	A	B	-	-	-	B	A	B	-	-	B	-B
11	-	B	-	-	-	B	-	-	-	-	-	B	A	A	-	-	-	A
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	A	B	-	-	A	B	A	B	-	-	-	B	A	B	-	-	-	B
14	A	B	-	-	A	B	A	B	-	-	-	B	A	A	-	-	-	A
15	-	B	-	-	-	B	A	B	-	-	-	A	A	-	-	-	-	A
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A = allèle du parent1

B = allèle du parent2

- = néant

IR24, Nipponbare, Kasalath et koshihikari = Témoins

4.1.3. Populations cultivées dans les conditions de riziculture irriguée

En se référant aux variétés témoins IR24 et Nipponbare (Tableau 8), la variété IR64 *Sub1* est le parent donneur dans ce croisement pour tous les marqueurs associés aux descripteurs « GW5 ». La variété Wita4 est le parent donneur pour tous les marqueurs associés aux descripteurs « Gn1a » et « SCM2/APO1 » comparativement au témoin Koshihikari (Tableau 8).

La variété NL20 est le parent donneur pour les marqueurs GW5-1 et GW5-2 en tenant compte des variétés témoins IR24 et Nipponbare. Par contre, pour le marqueur SR17 associé au descripteur « GS3 », la variété parentale Gizal78 est le parent donneur tandis que pour les marqueurs RGS2-SSR2, c'est la variété NERICA-L-20 qui est le parent donneur.

En se référant aux variétés IR24, Nipponbare Kasalath et Koshihikari qui sont les témoins pour ce croisement NERICA-L-19/IR8, la variété IR8 est le parent donneur de l'allèle d'intérêt « B » pour tous les descripteurs utilisés.

Tableau 8: Identification de l'allèle du parent donneur pour les populations en condition de riziculture irriguée

N° des Marqueurs	Wita4	IR64 Sub1	IR24	Nippon bare	Kasalath	Koshihikari	NL20	Giza178	IR24	Nippon bare	Kasalath	Kosshi hikari	NL19	IR8	IR24	Nipponbare	Kasalath	Koshi hikari
1	-	A	A	A	A	-	B	-	B	B	B	-	A	-	B	B	B	-
2	B	A	-	A	-	-	B	A	-	A	-	-	A	B	-	B	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	B	A	A	-	-	-	B	A	A	-	-	-	A	B	B	-	-	-
5	B	A	B	-	-	-	B	A	B	-	-	-	A	B	B	-	-	-
6	-	B	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	B	A	-	-	-	B	B	A	-	-	-	B	A	B	-	-	-	B
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	B	A	-	-	-	A	B	A	-	-	-	A	B	A	-	-	-	B
10	B	A	-	-	-	A	B	A	-	-	-	A	B	A	-	-	-	B
11	B	A	-	-	-	B	B	A	-	-	-	A	B	A	-	-	-	B
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	B	A	-	-	-	B	B	A	-	-	-	B	B	A	-	-	-	B
14	B	A	-	-	-	-	B	A	-	-	-	B	B	A	-	-	-	-
15	B	A	-	-	-	A	B	A	-	-	-	B	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A = allèle du parent1

B = allèle du parent2

- = néant

IR24, Nipponbare Kasalaht et koshihikari = Témoins

4.1.4. Etude du polymorphisme entre les variétés parentales

Au total seize (16) marqueurs de type SSR et Indel associés aux principales composantes de rendement ont été utilisés pour l'étude du polymorphisme entre les variétés parentales. Le polymorphisme entre deux parents est obtenu en se basant sur la différence des poids moléculaires pour chaque marqueur.

Le taux du polymorphisme (Tableau 9) est de 75% pour les croisements FR19/IR55423-01, et NERICA-L-20/Giza 178. Il oscille entre 81,25 % et 87,50 % pour les croisements Kogoni/IR55423-01, NERICA-L-19/IR8 et Wita4/IR64 *Sub1*. Le taux de 62,5 % a été enregistré avec le croisement BG90-2/IR55423-01.

Tableau 9 : Polymorphisme des marqueurs en fonction des croisements

N°	Croisement	Marqueurs			Totaux	Taux de polymorphisme (%)
		P	NP	Nul		
1	FKR19/IR55423-01	12	3	1	16	75,00
2	Kogoni90-1/IR55423-01	13	2	1	16	81,25
3	BG90-2/IR55423-01	10	5	1	16	62,50
4	NL19/IR8	14	1	1	16	87,50
5	Wita4/IR64 <i>Sub1</i>	13	2	1	16	81,25
6	NERICA-L-20/Giza178	12	3	1	16	75,00

P = *Marqueur polymorphe* ;

NP = *Marqueur non polymorphe*

4.1.5. Exemple de révélation avec l'amorce RGS1-SSR1 (GS3) avec le croisement Kogoni 90-1/ IR55423-01

La figure 10 donne le résultat de la révélation de l'amorce RGS1-SSR1 (GS3). Elle met en évidence des bandes claires sur fond sombre qui traduisent la présence et le poids moléculaire de chaque lignée utilisée. Chaque bande représente un allèle à un locus pour chaque lignée en disjonction et les deux parents.

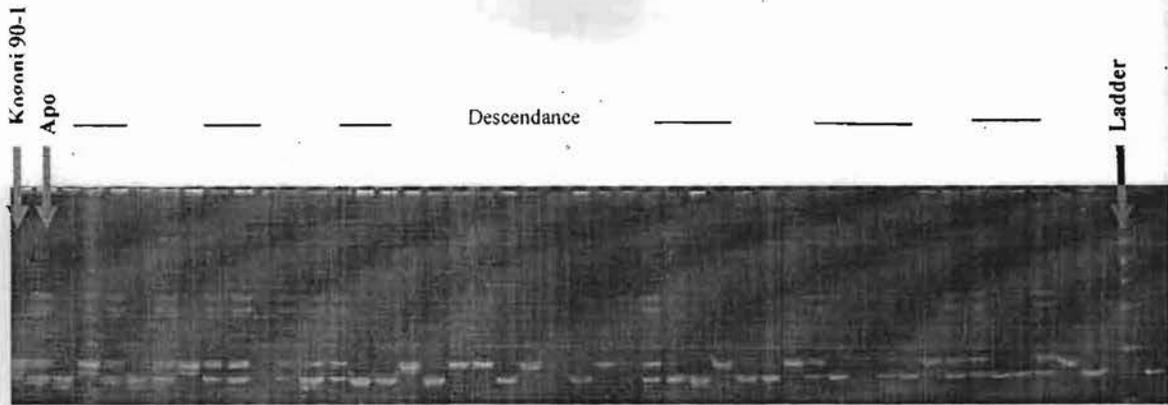


Figure10: Révélation d'un gel obtenu par le marqueur RGS1-SSR1 (GS3)

4.1.6. Pourcentage d'introgession des lignées issues de NERICA-L-20/Giza 178

Des résultats satisfaisants dans l'ensemble ont été obtenus avec 8 marqueurs quant au pourcentage d'introgession pour les différents nombres de traits par une lignée. Le croisement NERICA-L-20/Giza 178 est constitué de 90 lignées en disjonction (Figure 11). Quatre pourcent (4%) des lignées ont un taux d'introgession de 4 traits, 12% d'entre elles possèdent 3 traits. Le plus fort pourcentage d'introgession de 37% est obtenu avec deux traits. Ce sont des lignées qui ont cumulés 2 allèles. Enfin, 11% n'a introgressé aucun des 4 traits des parents NERICA-L-20 et Giza 178.

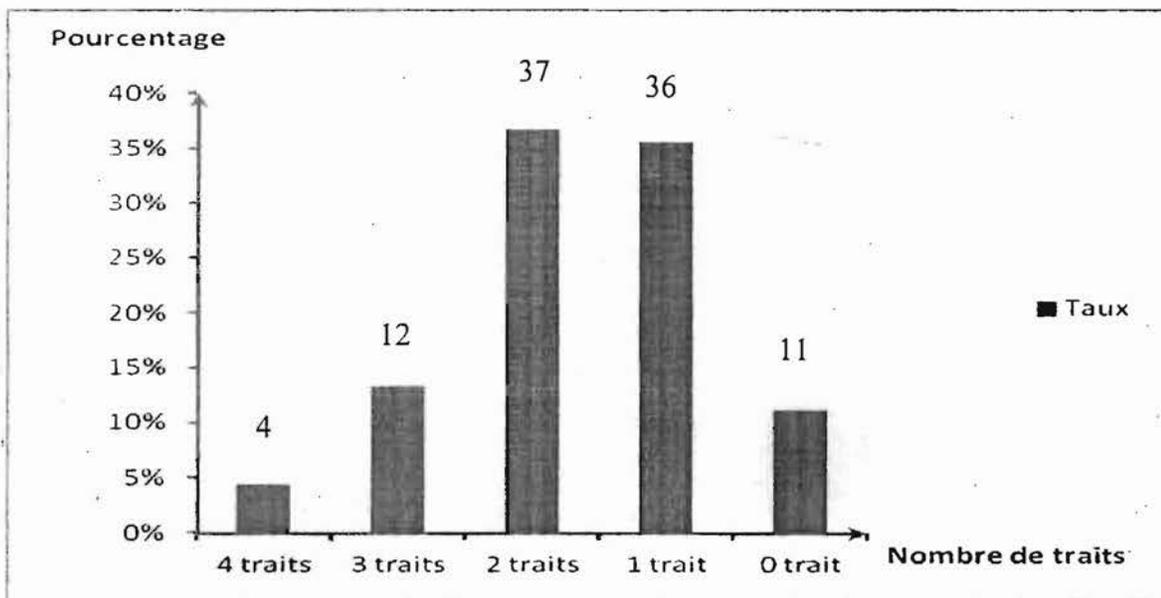


Figure 11 : Nombre de traits introgressés par les lignées en disjonction issues du croisement NERICA-L-20/GIZA 178

4.1.6.1. Fréquence allélique des différents marqueurs

Le tableau 10 présente la fréquence allélique de 4 marqueurs pour chaque trait. L'allèle « A » du parent provient fortement des traits comme le nombre de grains, le poids de grains et l'aptitude de grains pleins, lourds et plants résistants à la verse, représentés respectivement par les marqueurs Gn1a-SSR2-00, GW5-1 et SCM2 3628 55 03 qui ont fourni des informations exploitables pour ce croisement.

Tableau 10 : Fréquence allélique des principaux marqueurs

Marqueurs	A	B	E	H	M	A (%)	B (%)	E (%)	H (%)	M (%)
Gn1a-SSR2- 00	41	48	0	0	3	44,6	52,2	0,0	0,0	3,3
SCM2-3628-55- 03	44	42	0	0	6	47,8	45,7	0,0	0,0	6,5
RGS2-SSR2	46	14	1	0	31	50,0	15,2	1,1	0,0	33,7
GW5-1	27	48	0	2	15	29,3	52,2	0,0	2,2	16,3

A= allèle du parent 1; B= allèle du parent2 ; E= allèle non parental ; H= hétérozygote ; M= manquant

4.1.5.2. Identification des lignées en disjonctions

L'analyse du niveau d'introgession des traits évalués à travers ce croisement (tableau 11), nous permet d'isoler des lignées qui ont cumulé au moins trois (3) allèles de ces différents traits.

Tableau 11: Lignées en disjonction par composante de rendement

Croisements	4 traits	3 Traits			
	GW5-1, RGS2-SSR2, Gn1A-SSR2-00, SCM2-3628-55-03	GW5-1	RGS2-SSR2	Gn1A-SSR2-00	SCM2-3628-55-03
NERICA-L-20/Giza 178	V 304	V41	V41	-	V41
		V576	V576	-	V576
	V285	V589	V589	-	V589
		V153	-	V153	V153
	V415	V263	-	V263	V263
		V458	-	V458	V458
	V543	V467	-	V467	V467
		V892	-	V892	V892
		V414	V414	V414	-
		V688	V688	V688	-
		-	V199	V199	V199

4.1.7. Pourcentage d'introgression des différents traits

Au niveau du croisement Wita4/IR64 Sub1 (figure 13), trois traits ont donné de résultats concluants. Alors, le plus grand nombre d'allèles introgressés est 3, révélé par 2% de la population. Sur les 94 variétés, 21% sont restées indifférentes.

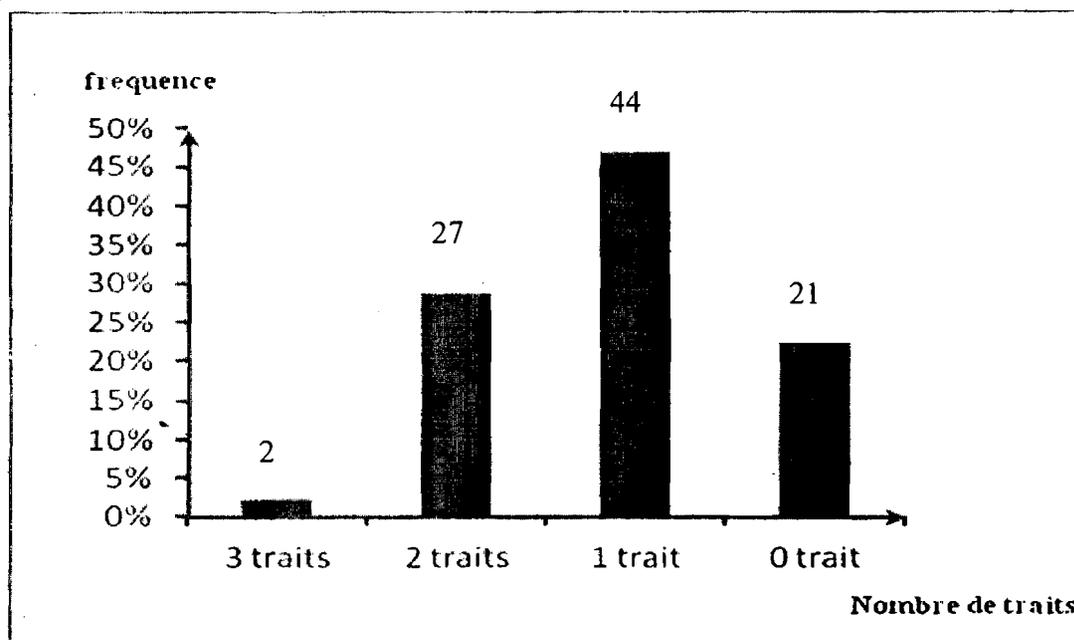


Figure 13 : Niveau d'introgression des allèles pour le croisement Wita4/IR64 Sub1

4.1.7.1. Fréquence allélique des marqueurs utilisés

Pour ce croisement, les marqueurs ont dans l'ensemble révélé plus de 40% de la population porteurs de l'allèle « B », comme le montre le tableau 12.

Tableau 12 : Fréquence des marqueurs

Marqueurs	Allèles					A (%)	B (%)	E (%)	H (%)	M (%)
	A	B	E	H	M					
Gn1a-SSR2-00	32	42	7	0	15	33,3	43,8	7,3	0,0	15,6
SCM2-3628-55-03	36	52	1	0	7	37,5	54,2	1,0	0,0	7,3
RGS2-SSR2	41	40	0	0	15	42,7	41,7	0,0	0,0	15,6

A= allèle du parent1 ; B= allèle du parent2 ; E= allèle non parental ; H= hétérozygote ; M= manquant

4.1.7.2. Identification des lignées en disjonction

Les lignées en disjonction retenues pour ce croisement (Tableau13) sont constituées de 2 lignées ayant introgressé tous les trois allèles des différents traits et 27 lignées qui ont reçu deux des allèles correspondant à chaque composante de rendement.

Tableau 13 : Lignées en disjonction concernées

Nombre de traits	3 Traits	2 Traits		
		RGS2-SSR2	Gn1a-SSR2-00	SCM2-3628-55-03
		V494	V494	-
		V501	V501	-
		V807	V807	-
		V808	V808	-
		V854	V854	-
		V862	V862	-
		V879	V879	-
		V895	V895	-
		V903	V903	-
		V944	V944	-
		V948	V948	-
Lignées	V703	-	V230	V230
		-	V259	V259
	V724	-	V296	V296
		-	V424	V424
		-	V590	V590
		-	V661	V661
		-	V737	V737
		-	V474	V474
		V478	V478	
		V628	V628	
		V691	V691	
		V695	V695	
		V685	V685	
		V750	V750	
	V759	V759		
	V796	V796		

4.1.7.3. Classification hiérarchique des lignées en disjonction

Au total 94 lignées en disjonction sont soumises à la classification hiérarchique.

L'arbre phylogénétique met en évidence les variétés parent Wita4 et IR64 *Sub1* appartenant à deux groupements distincts chacun. Cependant les lignées qui ont introgressé au moins deux traits se trouvent dans le même groupement que le parent Wita4 (figure 14). Les deux lignées ayant introgressé trois traits pour ce croisement ont une très grande similarité avec le parent Wita4 du point de vue distance génétique, et celles ayant reçu deux traits sont à des positions plus ou moins éloignées du même parent.

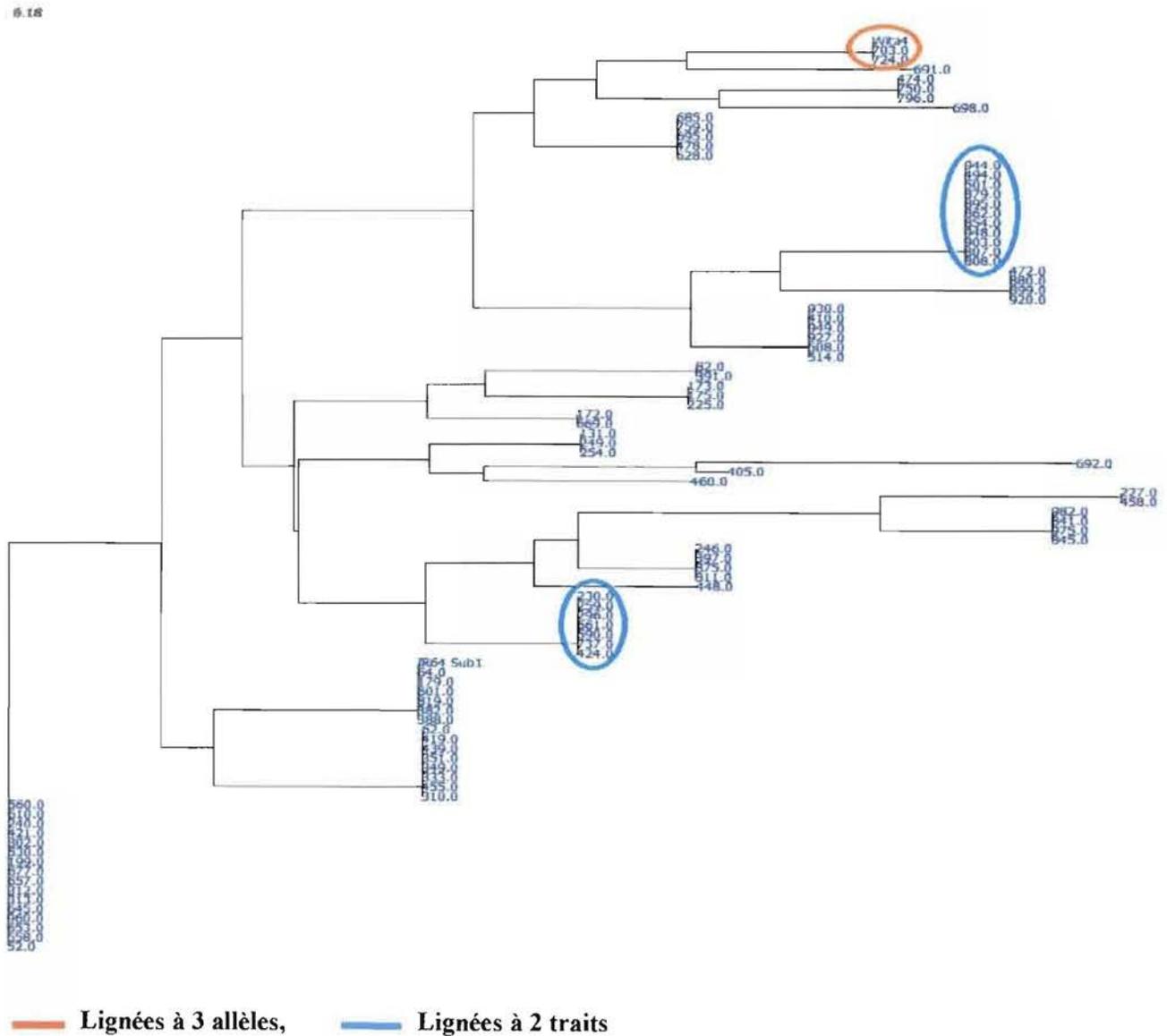


Figure 14 : Dendrogramme des 94 lignées

4.1.7.4. Pourcentage des lignées en fonction des composantes de rendements

Pour les croisements NERICA-L-19/IR8 et Kogoni/IR55423-01 (tableau 14) sur les 16 marqueurs testés seulement deux marqueurs SSR ont donné des résultats satisfaisants avec 29% de la population NERICA-L-19/IR8 qui a reçu les deux allèles correspondant aux deux traits évalués.

Tableau 14: Population NERICA-L-19/IR8

Traits	Nombre		Taux(%)
	Lignée	Population totale	
2	19	66	29
1	30	66	45
0	17	66	26

4.1.7.5. Fréquence allélique des marqueurs utilisés

Les résultats du Tableau 15 montrent que 56% des lignées ont reçu l'allèle «A» avec les marqueurs associés aux composantes de rendement panicule pleine et tige forte (SCM2/APO1). Le marqueur associé à la taille des grains (GS3) révèle que 74% de la population porte l'allèle «B».

Tableau 15 : Fréquence des marqueurs

Marqueurs	Allèles							
	A	B	E	M	A (%)	B (%)	E (%)	M (%)
SCM2-3628-55-03	37	19	3	7	56,1	28,8	4,5	10,6
RGS2-SSR2	8	49	6	3	12,1	74,2	9,1	4,5

A= allèle du parent 1 ; B= allèle du parent2 ; E= allèle non parental ; M= manquant

4.1.7.6. Identification des lignées en disjonction

Au total deux traits ont donné des résultats intéressants. L'analyse des résultats a permis d'isoler 19 lignées en disjonction qui ont introgressé les deux allèles identifiés par les marqueurs associés aux deux traits évalués.

4.1.7.7 Classification hiérarchique des lignées en fonction des composantes de rendement

Soixante six (66) lignées en plus des deux parents ont fait l'objet de la classification hiérarchique. Le dendrogramme ainsi obtenu montre un regroupement des lignées en deux (2) groupes (Figure15). Le deuxième groupe est constitué de 2 sous groupes auxquels appartient chacun des deux parents. Le regroupement contenant le parent IR8 comporte 28 lignées dont dix neuf (19) ont un lien très rapproché à la variété NERICA-L-19. Ces dernières sont les lignées en disjonction ayant introgressé les allèles d'intérêt des traits évalués pour ce croisement.

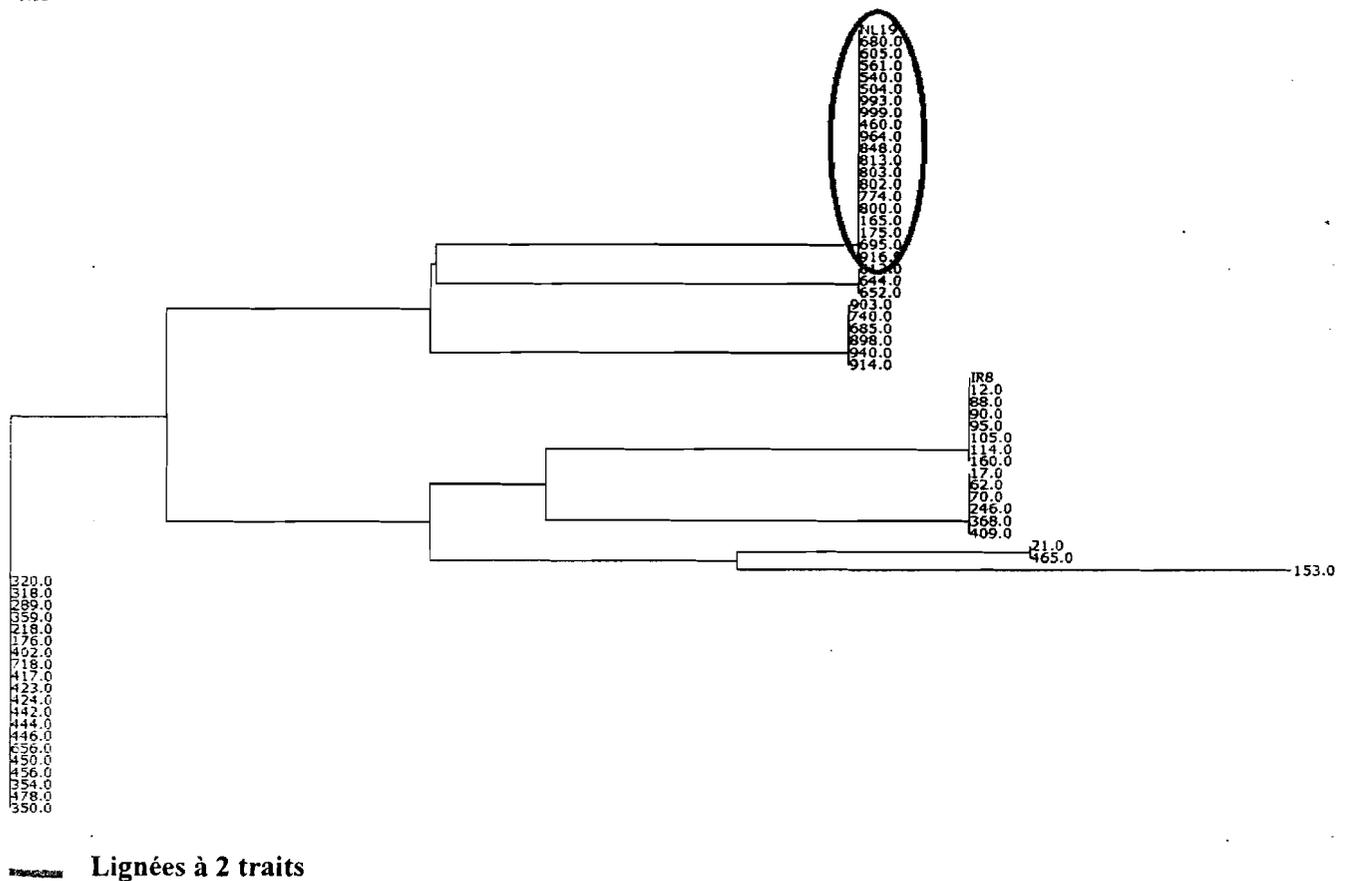


Figure 15 : Dendrogramme de la population NERICA-L-19/IR8 par la méthode de

4.1.8. Analyse de la population Kogoni/IR55423-01

Deux marqueurs seulement ont donné des résultats satisfaisants pour la population de Kogoni/IR55423-01. De plus, un des marqueurs utilisés s'est révélé monomorphe. Aucune des lignées n'a introgressé deux allèles. L'arbre phylogénétique présente le regroupement des 21% des lignées qui ont introgressé un seul allèle (annexe 5).

4.2. Discussion

L'étude de la caractérisation moléculaire des lignées en disjonction de la génération F₂, nous a conduites à des résultats intéressants. Ces lignées sont issues des croisements entre dix (10) variétés parents, tous de fort potentiel de rendement. Elles sont évaluées par rapport à leurs composantes de rendement. Le rendement est un paramètre contrôlé par plusieurs gènes correspondant à des composantes de rendement. Ainsi, l'utilisation des témoins positifs et des marqueurs associés à chaque composante de rendement, a permis l'identification du parent donneur de l'allèle d'intérêt à la descendance. Les variétés IR24 et Nipponbare se sont révélées comme témoins par rapport au poids du grain (GW5) et la taille des grains (GS3), particulièrement pour les marqueurs GW5-1, SR17, RGS1-SSR1 et RGS2-SSR2. De plus, Koshihikari s'est avéré témoin unique des marqueurs associés aux composantes de rendements telles que, le nombre de grains par panicule (Gn1a) et la caractéristique de tiges fortes panicules lourdes et pleines (SCM2/APO1), plus précisément pour les marqueurs Gn1a-SSR2-00, Gn1a-SSR1-01, Gn1a-SSR1-03, SCM2-RM20559, SCM2-3628-55-03, SCM2-3628-55-04, SCM2-SSR-gcggga-03. Nos résultats obtenus corroborent en partie ceux de Zong *et al.* (2012) où Nipponbare a été utilisé comme témoin pour l'identification de 4 QTLs associés au poids de grain chez le riz.

La forte proportion de polymorphisme supérieure à 75% et obtenue par les marqueurs à travers les différents traits considérés permet de s'assurer de la possibilité de transfert et d'identification des allèles des composantes de rendements ciblées pour cette étude dans la descendance. En effet, Semagn *et al.*, (2007) ont utilisé des marqueurs de type SSR pour déterminer leurs polymorphismes sur des variétés parents des NERICAs 1 à 7 et la conclusion de l'étude confirme nos résultats. Cette caractéristique des marqueurs est très capitale dans la mesure où le rendement est une expression de plusieurs caractères ou gènes.

De l'étude de différentes populations par rapport aux quatre (4) traits, nous obtenons en fonction des croisements réalisés et du nombre de marqueurs utilisés, des lignées qui ont cumulé au moins deux allèles des quatre traits considérés. Pour les lignées issues de NERICA-L-20 /Giza 178, quatre marqueurs associés aux différents traits ont été évalués. Nous retenons ainsi 4% de la population correspondant à quatre (4) lignées en disjonction qui ont introgressé les 4 allèles d'intérêt des traits étudiés à savoir le poids des grains (GW5), le nombre de grains par panicule (Gn1a), la taille des grains (GS3) et la caractéristique de tige

forte et panicules lourdes (SCM2/APO1). Il s'agit des lignées V670, V825, V832, et V957. De plus 11 autres lignées ont accumulé 3 allèles. Les quatre premières sont des lignées chez lesquelles les quatre caractères de rendement ont été identifiés. Par contre, dans le groupe des 11, seulement 3 caractères y ont été mis en évidence. Au sein des lignées issues du croisement Wita4/IR64 *Sub1*, les amorces associées aux traits évalués ont donné des résultats satisfaisants pour les trois traits évalués tels que le nombre de grains par panicule, la taille des grains et la caractéristique de plants à tiges fortes, panicules à grains pleins et lourds. Ainsi il a été découvert dans le génome des deux (2) lignées V703 et V724, trois (03) allèles de ces traits définissant le rendement contre 27 lignées qui ont cumulé deux (02) allèles.

En ce qui concerne l'analyse des lignées des deux derniers croisements, seulement deux composantes de rendement (la taille des grains et la caractéristique de tige forte à panicules lourdes et pleines) ont donné de résultats concluants avec les marqueurs utilisés. Dix neuf (19) lignées correspondant à 29% de la descendance de NERICA-L-19/IR8 ont reçu les deux allèles par rapport aux paramètres étudiés. Aucune des variétés issues du croisement Kogoni/IR55423-01 n'a introgressé deux allèles issus du poids des grains et de la taille des grains qui sont les traits auxquels les marqueurs ont été associés. Cela se justifie par le fait que l'un des deux marqueurs utilisés (GW5-1) s'est révélé monomorphe, ce qui ne permet pas la révélation des caractères hérités des parents au sein de la descendance. Quant au marqueur RGS1-SSR1, très polymorphe, il présente une particularité par la mise en évidence de 22% de variétés hétérozygotes, ce qui n'est pas le cas dans les autres populations. La cumulation des allèles par une lignée s'explique par le fait qu'elle est issue de deux parents distincts de fort potentiel de rendement, alors la descendance, selon la loi de la génétique, a hérité ces allèles des parents. En effet, à travers les différents a permis le transfert des caractéristiques de rendement de la variété donneur à la variété receveur. Par ailleurs, le rendement étant défini par plusieurs gènes, le croisement des deux (02) parents favorise la transmission de leurs caractéristiques à la descendance. Cette faculté des lignées à cumuler plusieurs allèles est d'une grande importance pour l'accroissement du rendement des variétés de riz. En effet, Torres *et al.* (2010) abordent dans le même sens en préconisant la combinaison de plusieurs composantes de rendement dans le fond génétique d'une lignée afin d'accroître le rendement potentiel en sélection conventionnelle. Cela est important si bien qu'on le recommande en sélection assistée par marqueur (SAM). Ainsi, des études similaires réalisées par Zong *et al.* (2012) portant sur la combinaison de 2 traits tels que le poids du grain et le nombre de grains par panicule dans le génome d'une lignée sont en concordance avec nos résultats.

La caractérisation moléculaire des lignées a permis de mettre en évidence chez les lignées au niveau des différents croisements des caractères multiples définissant le rendement. Par ailleurs, les marqueurs utilisés ont aidé à l'identification des allèles d'intérêt des parents donneurs. Cet état de fait est encore confirmé par la répartition des lignées à travers l'arbre phylogénétique. La lecture du dendrogramme des 90 lignées de NERICA-L-20/Giza 178 traduit un regroupement des lignées par similarité du point de vue de la distance génétique. Quatre (4) lignées en disjonction ont intégré le maximum de traits et les affiche dans le même groupement que le parent NERICA-L-20. Ce regroupement traduit l'existence de lien de proximité avec ce parent et indique que les allèles reçus par ces lignées proviennent du même parent. En outre, les lignées en disjonction de 2 à 3 allèles ont une répartition plus ou moins proche des deux parents. Pour le croisement Wita4/IR64 *Sub1*, les lignées V703 et V724 qui ont intégré 3 traits, ont reçu les gènes de leurs parents Wita4 en témoigne le regroupement avec celui-ci dans le dendrogramme. Quant aux autres lignées, elles se trouvent dans le même groupe que la même variété mais, à des positions génétiques plus ou moins éloignées. Les 19 lignées en disjonction retenues du croisement NERICA-L-19/IR8 se sont révélées très similaires à la variété parent NERICA-L-19.

Ces différentes lignées en disjonction sont prédisposées à une performance de rendement plus significative que leurs parents auxquels elles sont similaires. Cela, à cause de l'effet additif des différents caractères cumulés par ces dernières. Mais la nature de ces effets doit être vérifiée par les données agronomiques telles que le rendement. En abordant dans le même sens, Xiao *et al.* (1996) déclarent que les distances génétiques obtenues par les marqueurs RAPD ou SSR peuvent être utiles à la prédiction du potentiel de rendement et l'hétérosis des espèces intra-spécifiques. Cependant, l'effet de la cumulation de plusieurs caractères par une lignée n'est pas clairement défini. En effet, Zong *et al.* (2012) en évaluant la possibilité de combiner 2 traits tels que le poids de grains, et le nombre d'épillets par panicule, ont montré qu'il n'existe pas une différence significative entre le poids du grain et le nombre de grains en F_3 . En revanche, ils avancent l'existence d'une corrélation négative de -0,23 entre les deux traits. Pour eux, l'explication se trouvait dans le concept de « source sombre » décrit par Venkateswarlu et Visperas (1987). De plus, les travaux de Fan *et al.* (2006) et de Xue *et al.* (2008) ont trouvé que les QTLs de la taille des grains (GS3) ont un effet pléthorique sur les QTLs du nombre de grains par panicule (Gn1a). En effet, ils ont montré que la réduction de l'expression de Gn1a par GS3 entraîne une accumulation de cytokinine dans les méristèmes engendrant ainsi l'augmentation du nombre d'organes reproducteurs.

Conclusion générale et perspectives

Notre travail, effectué dans le centre du riz AfricaRice à la station du Sahel a porté sur des lignées de riz en disjonction de la génération F₂. Ces lignées sont issues du croisement des variétés à fort potentiel de rendement. Le but de la caractérisation moléculaire de ces lignées est de :

- identifier à partir des profils moléculaires la ou les lignées en disjonction par rapport aux composantes de rendements ;
- Classer ces lignées en fonction des traits introgressés afin d'identifier celles qui seront utiles pour les intercroisements ultérieurs.

L'étude réalisée sur les quatre (4) populations a révélé des performances pour certaines lignées en ce qui concerne le nombre de traits introgressés. Il s'agit des traits tels que le poids du grain (GW5), la taille du grain (GS3), le nombre de grains par panicule (Gn1a) et la caractéristique de tige forte et panicule pleine et lourde (SCM2/APO1). L'utilisation des marqueurs microsatellites et indels associés aux différents descripteurs des composantes de rendement de riz ci-dessus citées a permis d'identifier au sein des lignées étudiées, celles qui ont introgressé au moins deux allèles correspondants aux différents traits étudiés. Ainsi, l'analyse de ces résultats a mis en évidence un taux d'introgression de 28,03% reparti comme suite : Quatre (4) lignées en disjonction à savoir V304, V285, V415 et V543 qui ont introgressé les 4 traits considérés, 14 lignées et 79 lignées en disjonction distinctes de performance non moindre, celles-ci ont introgressé respectivement dans leurs fonds génétiques 3 et 2 traits des 4 étudiés. Ainsi, selon le nombre de traits, ces lignées ont leurs fonds génétiques enrichis et cela leur offre une prédisposition pour une bonne performance des composantes de rendement.

Les résultats obtenus à l'issue de notre étude sont certes intéressants, mais vue l'objectif de l'étude d'autres études complémentaires seraient nécessaires. Pour cela, nous suggérons que:

- Une étude soit réalisée avec tous les QTLs associés aux composantes de rendement couvrant les 12 chromosomes du génome du riz ;
- Les lignées retenues soient l'objet d'autres études afin de mettre en évidence les effets d'interactions qui peuvent exister entre les différents gènes ;
- D'autres études soit entreprises sur des lignées cultivées en aérobie car la présente étude qui était prévue pour couvrir les deux écologies, n'a porté que sur les lignées en condition de riziculture irriguée qui ont été caractérisés.

Références bibliographiques

Adeyemi P., Vodouhe S.R., 1996 : Amélioration de la productivité des variétés locales de *Oryza glaberrima* Steud par des croisements intra et interspécifiques avec *Oryza sativa* L. In Hybridations interspécifiques au Bénin. ADRAO, rapport annuel, pp 159-175.

ADRAO, 1992. Manuel illustré de riziculture pluviale ; IRRI/IRRAST-CIRAD. Montpellier, France, 284p.

ADRAO, 1995. Formation en production rizicole : manuel du formateur. Edition sayce publishing. Royaume Uni. 305p.

ADRAO, 2002. NERICA : *le riz, source de vie*. Bouaké, Côte d'ivoire, 8p.

ADRAO/SAED, 2011. Manuel Pratique de Riziculture dans la Vallée du Fleuve Sénégal version 2, Février 2011. 17p.

ADRAO, 2009. La réponse à la crise rizicole. Rapport annuel 2008, Cotonou, Bénin : 60p.

AfricaRice, 2013. Structure et organisation. Lien électronique www.africaRice.org

AfricaRice, 2010. Riz <http://fr.wikipedia.org/wiki/Riz>. Consulté le 17-09-2013

Angladette A. 1996. Le riz, G.P. Maisonneuve et Larose, Paris, France, 930p

Arraudeau M., 1998. Le riz irrigué. Tome I et Tome II, édition Maisonneuve et Larose, Paris, France, 659 p.

Balasubramanian V., Bell M. et Sombilla M., 2013. Yield, profit, and knowledge gaps in rice farming: causes and development of mitigation measures. International Rice Research Institute (IRRI), MCPO 3127, 1227 Makati, Philippines. <http://www.fao.org/docrep/003/x6905e0f.htm> 31-march-2013

Balasubramanian V., Sie M., Hijmans R.J. et Otsuka K. 2007. Increasing Rice Production in Sub Saharan Africa: Challenges and Opportunities. *Advances in Agronomy*, 94: 55-133.

CIRAD, 2002, *Annals of Botany* 100 : 951-957.

Courtois B., 2007. Une brève histoire du riz et de son amélioration génétique. Rapport

interne -CIRAD, UMR1096, TA40/03, 34398 Montpellier, France. 13p.

Dembélé Y., 1995. Modélisation de la gestion hydraulique d'une retenue d'irrigation : application au périmètre rizicole de Mogtédo (Burkina Faso). Thèse de doctorat d'Etat, spécialité génie rural et des procédés, ENSA de Rennes, France. 156 p.

Fan C.C., Xing Y.Z., Mao H.L., Lu T.T., Han B., Xu C.G., Li X.H. et Zhang Q.F., (2006). GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet* 112:1164–1171

FAO Rice Market Monitor, 2013. Trade and Markets Division Food and Agriculture Organisation of United Nations. Volume XVI-Issue N°3

<http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>

FAO, 2004. Le riz, c'est la vie. www.rice2004.org

FAO, 2007. Annuaire statistique de la FAO (FAOSTAT). Vol 1.

FAO, 2010. Trends of rice paddy production: monitoring the market, http://www.fao.org/esc/fr/15/70/highlight_71.html. Consulté le 09-10-13

Gallais A., 2002. Evolution des concepts, méthodes et outils de l'amélioration des plantes papier présenté au colloque sur l'amélioration des plantes et rupture. Montpellier.

Huihui Y., Xie W., Wang J., Xing Y., Xu C., Li X., Xiao J. et Zhang Q., 2011. Gains in QTL Detection Using an Ultra-High Density SNP Map Based on Population Sequencing Relative to Traditional RFLP/SSR Markers. March 2011, Volume 6, Issue 3, e17595

Kima. F., 1993. Evaluation des variétés améliorées de riz dans trois zones agro-écologiques du Burkina Faso (Douna, Karfiguéla, Vallée du Kou). Mémoire de fin de cycle, Institut de Développement Rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 60p.

Lacharme M., 2001. Le plant de riz : Données morphologiques et cycle de la plante (Mémento Technique de Riziculture). Ministère du Développement Rural et de l'Environnement-Direction de la Recherche Formation Vulgarisation – Coopération française. Saint-Louis, 22 p.

Li Y.B, Fan C.C, Xing Y.Z, Jiang Y.H, Luo L.J, Sun L, Shao D, Xu C.J, Li X.H, Xiao J.H, He Y.Q, et Zhang Q.F., 2011. Natural variation in GS5 plays an important role in regulating grain size and yield in rice. *Nat. Genet.* 43, 1266–1269.

Ministère de l'Agriculture du Sénégal, 2009. Stratégie Nationale de Développement de la Riziculture, 2009 33p

Miura K., Ikeda M., Matsubara A., Song XJ., Ito M., Asano K., Mat-suoka M., Kitano H. et Ashikari M., 2010. OsSPL14 promotes panicle branching and higher grain productivity in rice. *Nat. Genet.* 42, 545–549.

Morgante M., Olivieri AM., 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* 3 (1), 175–182.

Moukoubi Y.D., 2001. Caractérisation des lignées intraspécifiques (*O. sativa x O. sativa*) et interspécifiques (*O. glaberrima x O. sativa*) pour leur adaptabilité à la riziculture de bas-fond. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement rural, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. 72 p.

Moukoubi Y.D., 2012. Diversité génétique des variétés de NERICA et des variétés «interspécifiques» (*Oryza glaberrima x O. sativa*) de bas-fonds et étude du déterminisme génétique de la compétitivité des variétés de riz vis – à – vis des mauvaises herbes. Thèse de Docteur, spécialité : Ressources phylogénétiques et protection des cultures, option : Amélioration des plantes, Université d'Abomey-Calavi, Bénin. 233 p

Nadie G., 2008. Evaluation multilocale de nouvelles variétés de riz en condition de bas-fond et irriguées de l'Ouest du Burkina Faso. Mémoire de fin de cycle, Institut du Développement Rural, Université polytechnique de Bobo Dioulasso, Burkina Faso. 65p.

Ndjondjop M. N., Lorieux M., Sequier J., Fargette D., Reversat G., Second G. et Ghesquiere A., 1997. Application des marqueurs moléculaires et de la cartographie génétique à l'utilisation du potentiel de l'espèce africaine de riz cultivé (*O.glaberrima* Steud.) en amélioration des plantes. *In* Hybridations interspécifiques. ADRAO, Bouaké, Côte d'Ivoire. pp123 – 139

Ookawa T., Hobo T., Yano M., Murata K., Ando T., Miura H., Asano K., Ochiai Y., Ikeda M., Nishitani R., Ebitani T., Ozaki H., Angeles E.R., Hirasawa T. et Matsuoka M.

2010. New approach for rice improvement using a pleiotropic QTL gene for lodging resistance and yield. *Nat Commun* 1, p132.

Peng S, Khush G.S. et Cassman K., 1999. Evaluation of a new plant ideotype for increased yield potential. *In* Cassman KG, editor. *Breaking the yield barrier. Proceedings of a workshop on Rice Yield Potential in favorable Environments.*: International rice research institute. Los Banos, Philippines. pp5-20.

Peng S., Khush G. S., Virk P., Tang Q. et Zou Y., 2008. Progress in ideotype breeding to increase rice yield potential. *Field Crops Research* 108, pp 32–38.

Pernes J., Berthaud J., Besançon G., Combes D., Leblanc J.M., Lourd M., Savidan Y. et Second G., 1984. *Gestion des ressources génétiques des plantes : monographies. Tome I.* Edition Lavoisier. France, 212 p.

Pham J. L., 1992. Evaluation des ressources génétiques des riz cultivés en Afrique par hybridation intra et interspécifique. Thèse de Docteur es sciences, Université de Paris XI ORSAY, Paris, 236 p.

Raemaekers R. H., 2001. *Agriculture en Afrique tropicale.* Edition : Direction Générale de la Coopération Internationale (DGCI) ; Bruxelles, Belgique 2001. pp85-105.

Rapport Pays Sénégal. 2010. Rapport de mission Sénégal: implication des acteurs ruraux dans la définition des politiques de développement en Afrique de l'Ouest et du Centre. Rapport pays-Sénégal, 64 p.

Santoni S., Faivre- Rampant P., Prado E. et Prat D., 2000. Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cah. Agric.* 9(4): 3311-3327.

Sarla N. et Swamy B. P., 2005. *Oryza glaberrima*: A source of the improvement of *Oryza sativa*. *Current science.* 89 (6): 955-963.

Semagn K., Ndjioudjop M. N., Lorieux M., Cissoko M., Jones M. et McCouch S., 2007. Molecular profiling of an interspecific rice Population derived from a cross between WAB 56-104 (*Oryza sativa*) and CG 14 (*Oryza glaberrima*). *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (17), 2014-2022, 5 September 2007 available online at <http://www.academicjournals.org/AJB>. Consulté le 04-08- 2013

Sie M., 1989. Analyse de la diversité génétique des variétés traditionnelles de riz (*Oryza sativa* L. et *O. glaberrima* Steud.) du Burkina Faso. Mémoire d'étude pour l'obtention du diplôme d'études approfondies de Biotechnologie et amélioration des productions végétales option : génétique et amélioration des espèces végétales, Faculté des Sciences et Techniques de Université Nationale de Cote d'Ivoire, 64 p.

Sié M., 1991. Prospection et évaluation génétique des variétés traditionnelles de riz (*Oryza sativa* L. et *O. glaberrima* Steud) du Burkina Faso. Thèse de Docteur – Ingénieur. Spécialité: génétique et amélioration des espèces végétales. Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Nationale de Côte d'Ivoire. Abidjan. Côte d'Ivoire, 118 p.

Sié M., 2004. Développement de la variété du riz. Technique de production de prébase. Yamoussokro, Côte d'Ivoire, 26-31 juillet 2004.

Sie M., Dogbe S. et Diata M., 2009. Sélection variétale participative du riz. Manuel du technicien. ADRAO, Cotonou, Bénin. 118p.

Sweeney, M. et McCouch S., 2007. The Complex History of the Domestication of Rice. *Annals of Botany*, 10: 1–7. www.aob.oxfordjournals.org.

Torres E. A., Carabali S. J., Amezquita N., Borrero J. et Martinez C. P., 2010. Increasing Yield Potential in Rice. International center for tropical Agriculture (CIAT), AA 6613, Cali, Colombia.

Traoré S. A., 2009. Etude de polymorphisme variétal de résistance à la sécheresse du riz pluvial en milieu semi-contrôlé : cas des stress précoce et final. Mémoire de DEA. Option biotechnologie végétale. Ecole Doctorale Régionale du RA-BIOTECH. Université de Ouagadougou, Burkina Faso. 76p.

USDA, 2012. Céréale/Riz, Note de conjoncture : Analyse économique de la filière riz de FranceAgriMer, Numéro 42/septembre 2012.

Venkateswarlu, B. et Visperas R.M., 1987. Source-sink relationships in crop plants. *Int. Rice Research Paper Series* 125, 1 e 19.

Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. et Zabeau M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23, pp. 4407–4414.

Wang C., Chen S., et Yu S., 2010. Functional markers developed from multiple loci in GS3 for fine marker-assisted selection of grain length in rice. *Theor Appl Genet* doi 10.1007/s00122-010-1497-0 9p

Weng J., Gu S., Wan X., Gao H., Guo T., Su N., Lei C., Zhang X., Cheng Z., Guo X., Wang J., Jiang L., Zhai H. et Wan J., 2008. *Cell Research* (2008) 18:1199-1209. doi: 10.1038/cr.2008.307; published online 18 November 2008

Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. et Tingey S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18 (22): 6531-6533.

Xiao J., Li J., Yuan L., McCouch R. S. et Tanksley D. S., 1996. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. *Theor Appl Genet* 92:637-643.

XLSTAT., 2011. XLSTAT, logiciel d'analyse de données et de statistiques pour Microsoft Excel. www.xlstat.com

Xue W.Y, Xing Y.Z, et Weng X.Y., 2008. Natural variation in Ghd7 is an important regulator of heading date and yield potential in rice. *Nat Genet* 2008; 40:761-767.

Fan C.C, Xing Y.Z, et Mao H.L., 2006. GS3, a major QTL for grain length and weight and minor QTL for grain width and thickness in rice, encodes a putative transmembrane protein. *Theor Appl Genet* 2006; 112:1164-1171.

Zong G., Wang A., Wang L., Liang G., Gu M., Sang T. et Han B., 2012. A pyramid breeding of eight grain-yield related quantitative trait loci based on marker-assistant and phenotype selection in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Genetics and Genomics* 39 : 335-350

www.gnis-pedagogie.org. Consulté le 07-11-2013

www.rizepillet.htm. Consulté le 29-07-2013

<http://www.dpw.wau.nl/pv/pub/ggt>. Logiciel Graphical GenoTypes (GGT). Consulté le 07-11-2013

ANNEXES

Annexe1 : Protocole d'extraction d'ADN

a.) Protocole de CTAB modifié par Bimpong *et al.*, (2011)

1. Couper finement 2 à 3 feuilles jeunes et les mettre dans des tubes de 2 ml autoclavés ;
2. Placez 2 boules par tube ;
3. Verser l'azote liquide sur les tubes (facultatif) et immédiatement moule avec le broyeur Geno (max 4 min) Répéter l'opération si nécessaire ;
4. Ajouter 800 µl de tampon CTAB 2X préalablement chauffé au Bain-marie à 65°C.
5. Bien mélanger et incuber à 65 °C pendant 30 minutes à 1 heure ;
6. Ajouter 800 µL de Chloroforme-alcool isoamyl (24:1), agiter à température ambiante pendant 20 minutes ;
7. Centrifuger à 12000 rpm pendant 10 minutes.
8. Récupérer environ 600 µl du surnageant dans de nouveaux tubes
9. Ajouter 600 µl d'isopropanol (1 volume) frais et incuber à 20 °C (toute la nuit) ou -80 °C (30 min-1h) ;
10. Centrifuger à 14000 rpm pendant 10 min puis décanter l'isopropanol ;
11. Laver le culot d'ADN avec de l'éthanol 70%, puis centrifuger à nouveau à 14000 rpm pendant 10 min ;
12. Dissoudre le culot dans 100 à 200 µl de TE après un séchage) la température ambiante pendant 2 à 3 heures ;
13. Incuber à 65°C pendant 30 minutes puis, conserver l'ADN à -20°C.
14. La qualité de l'ADN et la concentration peuvent être vérifiée sur un gel d'agarose ou en utilisant un spectrophotomètre.

Annexe2 : Composition des produits PCR

b.) Protocole de préparation des solutions:

Solution 40 % acrylamide (polyacrylamide) :

Elle est préparée à partir d'acrylamide et de bisacrylamide

- ✓ 40 g de polyacrylamide pour 100 ml ddH₂O
- ✓ 38 g acrylamide
- ✓ 2 g bisacrylamide

APS (Ammonium persulfate) 10 %:

Dissoudre 10 g ammonium persulfate dans 100 ml ddH₂O.

Le TBE (Tris borate EDTA) 10X

Il est préparé à partir d'une dissolution dans ddH₂O Pour 1 L :

- ✓ Tris base 105,0 g
- ✓ Acide Borique 55 g
- ✓ EDTA 9,3 g (ou 0,5 M EDTA 40 ml) dissoudre par l'agitateur magnétique

Le TAE (Tris Acétate EDTA) 50X

Il est préparé à partir d'une dissolution dans ddH₂O.

- ✓ Tris-bas 242 g
- ✓ Acide glaciale 57,1 ml
- ✓ 0,5M EDTA 100 ml, dissoudre par l'agitateur magnétique.

2X CTAB 1L (bromure d'hexadécyltriméthylammonium) :

✓ Dissoudre 20 g CTAB dans 860 ml ddH₂O à 60°C sur l'agitateur
81,82 g NaCl

- ✓ 100 ml 1 M Tris a Ph 8,0 (autoclave)
- ✓ 40 ml 0,5 M EDTA, Ph 8,0 (autoclave)
- ✓ Autoclave puis gardé dans la chambre froide.

TEMED (N,N,N',N' tétra-méthyl-éthylènediamine) :

C'est un réactif qui permet la polymérisation du gel.

Tampon de charge ou bleu de bromophénol :

Il est ajouté à l'amplifiât d'ADN à une proportion de 2-3µl dans chaque puits de la plaque PCR avant le dépôt pour la migration. Son rôle est de permettre le contrôle du fond de migration.

c.) Composition du gel de polyacrylamide 8% pour « n » gel

Produits	Quantité
ddH ₂ O	31 ml x n
10X TBE	4,5 ml x n
40% Acrylamide	9 ml x n
10X APS	450 µl x n
TEMED	37 µl x n

d.) La composition du mixte PCR pour « n » échantillon

NB : Le nombre d'échantillon est majoré à +10 échantillons par mesure de précaution

Produits	Quantité
Eau distillée (ddH ₂ O)	4,5 µl x (n+10)
10XBuffer	1 µl x (n+10)
DNTPs	1 µl x (n+10)
MgCl ₂	0,3 µl (x n+10)
Primers F	0,5 µl x (n+10)
Primer R	0,5 µl x (n+10)
Taq	0,2 µl x (n+10)
DNA	2 µl

Annexe 3 : Protocole de préparation de solutions de base

Tampon 10X TBE pour 1000ml	
Produits	Quantités
Tris	105 g
acid borique	55 g
ddh ₂ O	800ml
EDTA	40 ml ou 9.3 g

CTAB pour 500ml	
Produits	Quantités
CTAB	10 g
NaCl	40.91 g
Tris 1M pH=8	50 ml
EDTA 0.5M pH=8	20ml

Annexe 4 : Plate d'organisation montrant la disposition des variétés sur une plaque PCR de 96 puits

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Annexe 5 Tableau 16 : Nombre de lignés par traits reçu pour la population de

Kogoni 90-1/ IR55423-01

Traits	Nombre de		
	Ligné	pop totale	Taux(%)
2	0	76	0
1	16	76	21
0	60	76	79

Annexe 6: Liste des lignées en disjonction retenues ayant introgressés au moins deux traits

NERICA-L-20/Giza 178

4traits

V 304 ; V285 ; V415 ; V543

3 Traits

V41 ; V576 ; V589 ; V153 ; V263 ; V458 ; V467; V892 ; V414 ; V688 ; V331

2 traits

V20 ; V23 ; V30 ; V40 ; V78 ; V93 ; V126 ; V225 ; V249 ; V257 ; V276 ; V305 ; V306 ; V342 ; V372 ; V380 ; V428 ; V462 ; V472 ; V474 ; V510 ; V577 ; V585 ; V704 ; V894 ; V895 ; V902 ; V923 ; V936 ; V969 ; V973 ; V989

NERICA-L-19/IR 8 (2traits)

V165 ; V175 ; V460 ; V504 ; V540 ; V561 ; V605 ; V680 ; V695 ; V774 ; V800 ; V802 ; V803 ; V813 ; V848 V916 ; V964 ; V993 ; V999

Wita4/IR64 Sub1

3 Traits (V703 ; V724)

2 traits

V494 ; V501 ; V807 ; V808 ; V854 ; V862 ; V879 ; V895 ; V903 ; V944 ; V948 ; V230 ; V259 ; V296 ; V424 ; V590 ; V661 ; V737 ; V474 ; V478 ; V628 ; V691 ; V695 ; V685 ; V750 ; V759 ; V796