Le riz asiatique

Jean Christophe Glaszmann, Laurent Grivet,
Brigitte Courtois, Jean-Louis Noyer, Claude Luce,
Michel Jacquot, Laurence Albar,
Alain Ghesquière, Gérard Second

Héritage des plus anciennes civilisations — en Chine, près du fleuve Yang-Tseu, des traces de riziculture remontent à environ sept millénaires —, le riz représente aujourd'hui dans les pays en développement près de 50 % de la production de céréales, largement devant le blé et le maïs. La production mondiale de riz paddy, riz non décortiqué, avoisine 540 millions de tonnes, récoltées sur environ 150 millions d'hectares, dont 90 % en Asie. Dans cette région, la consommation annuelle de riz usiné par habitant est fréquemment supérieure à 100 kilos, et peut atteindre près de 200 kilos, comme au Myanmar ou au Laos. Sur d'autres continents, la consommation est plus variable mais peut s'élever à 100 kilos, en particulier à Madagascar, au Sierra Leone ou au Surinam. La consommation annuelle dans l'Union européenne est, quant à elle, de l'ordre de 5 kilos par habitant. La plus grande partie du riz est consommée localement, les échanges commerciaux mondiaux portant sur moins de 5 % de la production. Cependant, avec le progrès économique, les populations fortement consommatrices de riz diversifient peu à peu leur nourriture, tandis que les populations peu consommatrices l'intègrent progressivement dans leurs habitudes alimentaires. Selon les prévisions démographiques, les besoins en riz augmenteront de 70 % d'ici 2025.

Le riz est une plante semi-aquatique : elle tolère des conditions de culture aquatique, mais n'en dépend pas absolument. Dès l'origine, le développement

de la riziculture a été conditionné par une fertilité naturelle suffisante des sols et par une concurrence faible de l'enherbement. Les situations les plus favorables se rencontraient sur terres inondables et sur terrains défrichés en forêt.

La culture sur terres inondables a connu le développement le plus important, en particulier grâce aux aménagements pour l'irrigation et le drainage et à la possibilité de cultiver riz sur riz. La culture est mise en place soit par semis direct, soit par repiquage de plants obtenus en pépinières. Les bas-fonds humides des vallées et les larges plaines ont été systématiquement exploités. Une riziculture dite flottante a pu être pratiquée dans les zones sujettes à des crues pouvant atteindre 4 à 5 mètres, grâce à des variétés capables d'allonger leurs tiges de plusieurs centimètres par jour, comme au Bangladesh et au Mali. Au voisinage des côtes, des techniques facilitant le dessalement du sol par l'eau douce ont été élaborées pour dégager une saison de culture du riz, par exemple en Indonésie et en Guinée. A l'intérieur des terres, sur les flancs des collines, ce sont des terrasses qui ont été aménagées pour pratiquer la culture « en casiers », comme au Népal, aux Philippines et à Bali. La riziculture aquatique se rencontre ainsi de l'équateur à des latitudes de 40°, voire 50° nord, en Chine, et, dans les régions tropicales, du niveau de la mer à plus de 2 000 mètres d'altitude, au Népal et à Madagascar, entre autres.

Dans les régions tropicales humides, en dehors des conditions de culture aquatique, une riziculture dite pluviale, car elle dépend exclusivement des pluies pour son alimentation en eau, est aussi pratiquée. Elle s'est d'abord développée sur défriche de forêt. Après abattage et brûlis, le riz est semé à la volée ou en poquets. L'entretien de la culture exige peu d'interventions pendant deux ou trois ans, puis la fertilité naturelle du sol diminue tandis que les mauvaises herbes deviennent envahissantes. On déplace alors la culture, que l'on dit donc itinérante. Cette pratique disparaît peu à peu avec l'augmentation de la pression démographique. Des variantes intéressantes se rencontrent au Brésil, où sur des millions d'hectares le riz pluvial est cultivé avant l'installation de pâturages, mais aussi dans de nombreux pays, où le riz pluvial est cultivé en intercalaire dans de jeunes plantations d'hévéa, de caféier...

La taxonomie et les ressources génétiques

Les riz cultivés au sein du genre *Oryza*

Le riz cultivé appartient au genre *Oryza,* très divers, qui comprend plusieurs génomes reconnus sur une base cytogénétique, ainsi que des formes diploïdes et allotétraploïdes. On reconnaît plus de vingt espèces sauvages, dont neuf sont tétraploïdes. Elles se distribuent aujourd'hui sur tous les continents mais il est probable que l'origine du genre soit eurasiatique (SECOND, 1985).

Deux espèces sont cultivées : l'une est d'origine africaine et cantonnée presque uniquement à l'Afrique de l'Ouest, l'autre est d'origine asiatique. Toutes deux sont diploïdes et autogames. L'espèce cultivée africaine, *Oryza glaberrima,* est issue de la domestication en Afrique de l'espèce *Oryza breviligulata.* L'espèce cultivée asiatique, *Oryza sativa,* a une structure génétique tout à fait particulière, objet des travaux décrits dans ce chapitre. Sa domestication, à partir de l'espèce *O. rufipogon,* est très ancienne puisqu'on retrouve des restes de grains associés à des activités humaines vieux de près de 4 500 ans au Pakistan, de plus de 8 500 ans dans le nord de l'Inde, d'au moins 6 000 ans en Thaïlande et 7 000 ans en Chine. Les migrations dans un cercle plus large ont été constantes vers l'ouest, au Pakistan et en Iran, vers l'est — l'introduction du riz au Japon date du début du Ier siècle — et vers les îles du sud, Sri Lanka, Malaisie, Philippines, Indonésie, Taïwan. Les navigateurs malais ont probablement introduit le riz d'Indonésie à Madagascar au Ve ou au VIe siècle. Les Européens ont bien plus tard introduit le riz asiatique en Afrique tropicale puis en Amérique.

Les riz cultivés présentent une diversité de formes considérable. Les généticiens, notamment au Japon et en Inde, ont cherché très tôt à classer les variétés pour résumer la variabilité globale en quelques sous-ensembles. Pour ce faire, ils ont utilisé les caractères morphologiques et physiologiques et observé le comportement en croisement. On a ainsi rapidement identifié deux sous-espèces, *indica* et *japonica,* avec des types « tempéré » et « tropical » pour la seconde (Oka, 1958). Certains sélectionneurs ont distingué trois types morphologiques Indica, Japonica et Javanica (Chang, 1976), la situation précise de ce dernier type étant diversement interprétée.

Les ressources génétiques

Les ressources génétiques du riz sont l'objet d'une grande attention, notamment du fait de l'existence d'un Centre international de recherche agronomique, l'IRRI, International Rice Research Institute, consacré à cette seule filière (Chang *et al.,* 1984). Dans les années 30 à 50, les principaux pays producteurs de riz en Asie ont constitué des collections nationales importantes : celle de l'Inde rassemblait plus de 20 000 accessions, celle de Chine, près de 40 000. L'IRRI, créé en 1961, a rapidement acquis un rôle prépondérant, servant à la fois de centre d'échange international de semences et de centre de conservation à moyen terme grâce à des installations de qualité. La diffusion croissante des variétés semi-naines à haut rendement a par la suite stimulé la collaboration internationale en matière de collection. Les financements apportés par un autre membre du système international, l'IBPGR (International Board for Plant Genetic Resources), ont facilité cette collaboration. Entre 1971 et 1982, plus de 25 000 échantillons ont été collectés. Les institutions françaises sont intervenues en apportant un appui aux collectes en Afrique. Depuis 1994, un programme de collecte complémentaire dans les régions peu repré-

sentées dans les collections est financé par l'Agence suisse pour le développement et la coopération. La collection internationale compte aujourd'hui plus de 80 000 accessions, dont 95 % appartiennent à l'espèce *O. sativa* (JACKSON, 1997).

La collection internationale comprend la totalité des échantillons conservés dans certaines collections nationales, mais pas toutes. Un duplicata des échantillons est systématiquement déposé au centre de conservation de Fort Collins, aux Etats-Unis, après la première culture des accessions, la *rejuvenation*. Les accessions africaines font l'objet d'une duplication à l'IITA (International Institute for Tropical Agriculture), au Nigeria, et à l'ADRAO (Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'Ouest), en Côte d'Ivoire. A côté de recherches sur la physiologie et la conservation des semences, de nombreux travaux sont conduits pour caractériser et évaluer les accessions pour des descripteurs botaniques et des caractères d'intérêt agronomique (JACKSON, 1997).

L'organisation de la diversité génétique : quel apport des marqueurs moléculaires ?

Les marqueurs moléculaires apportent beaucoup à la compréhension de la diversité génétique du riz. Les isoenzymes, malgré le nombre limité de locus et d'allèles accessibles, ont fourni les premiers éléments de quantification de la différenciation intravariétale. En Asie, l'espèce cultivée apparaît fondamentalement bipolaire, ce qui est en accord remarquable avec les travaux de OKA (1958), mais avec un continuum de formes intermédiaires (SECOND, 1982). La majorité des variétés traditionnelles peut être divisée en deux groupes majeurs, correspondant aux sous-espèces *indica* et *japonica*. Seules 20 % des variétés n'y sont pas clairement rattachées (GLASZMANN, 1987 ; 1988). Les isoenzymes ont également montré une équidistance triangulaire entre l'espèce cultivée africaine, les formes typiques *indica* et les formes typiques *japonica* (SECOND, 1982). L'application du concept de l'horloge moléculaire en regard du scénario des modifications paléoenvironnementales (SECOND, 1985) a permis une interprétation globale de la structure génétique du genre *Oryza*, avec un scénario de triple domestication à partir d'espèces sauvages formées il y a environ deux millions d'années, à la suite de l'isolement de l'Afrique tropicale par le refroidissement du climat et de l'émergence en Asie de l'Himalaya comme barrière géographique. Les 20 % de variétés d'*Oryza sativa* atypiques pourraient provenir d'introgressions avec des formes sauvages locales des contreforts de l'Himalaya ou de recombinaisons entre formes *indica* et *japonica*. Une forme particulière a été également découverte dans l'ouest de l'Inde ; elle présente des traces d'introgression d'*O. glaberrima* (LOLO et SECOND, 1988). On

peut considérer que l'inventaire de ces formes échappant aux sous-espèces *indica* et *japonica* au sens strict n'est pas terminé.

La classification établie sur la base des isoenzymes concorde globalement avec des classifications locales, empiriques, ainsi qu'avec les classifications synthétiques, comme celles de OKA (1958) et de CHENG *et al.* (1984), établies sur des critères multiples associant composantes morphologiques — largeur du grain, pilosité, par exemple — et physiologiques — tolérance des plantules au froid (ZHOU *et al.*, 1988).

Avec l'avènement des nouvelles techniques moléculaires se sont succédé des études fondées sur plusieurs types de marqueurs moléculaires, qui ont permis de construire différentes classifications infraspécifiques. Chaque schéma nouvellement obtenu a généralement pu être comparé directement à un, parfois deux ou trois, des schémas existants sur la base d'une partie du matériel commune aux diverses études, les comparaisons plus globales s'effectuant de proche en proche. Des images remarquablement similaires, qui traduisent une structure bipolaire très marquée, ont été obtenues avec les différents outils utilisés : isoenzymes (SECOND, 1982 ; 1985 ; GLASZMANN *et al.*, 1984 ; GLASZMANN, 1985 ; 1987 ; 1988), RFLP (WANG et TANKSLEY, 1989 ; ZHANG *et al.*, 1992 ; ISHII *et al.*, 1995 ; SECOND et GHESQUIERE, 1995), RAPD (VIRK *et al.*, 1995 ; MACKILL, 1995 ; PARSONS *et al.*, 1997), ISSR-PCR (PARSONS *et al.*, 1997 ; BLAIR *et al.*, 1999), AFLP (ZHU *et al.*, 1998) et microsatellites (YANG *et al.*, 1994), ces derniers donnant cependant une image plus floue du fait d'un polymorphisme plus important et de nombreuses formes alléliques rares.

Par ailleurs, VIRK *et al.* (1996) ont signalé la valeur des marqueurs moléculaires pour prédire certains caractères d'intérêt agronomique à expression quantitative lorsque l'on considère un échantillon de variétés très diverses. Cette observation porte en elle la question de l'organisation de la diversité génétique et de son déterminisme : quelle structuration, pour quels caractères ? quels mécanismes de maintien ou d'évolution ? quelle utilisation ?

Nous proposons ici de comparer plusieurs schémas de classification reposant sur différents types de caractères, en concentrant les analyses sur des échantillons largement partagés (voir annexe). Ensuite, nous examinons quelques situations particulières permettant d'aborder certains aspects de la dynamique qui conditionne la diversité génétique des riz cultivés.

La diversité révélée par différents types de marqueurs

LES ISOENZYMES

L'étude la plus vaste a porté sur un échantillon de 1688 variétés traditionnelles asiatiques caractérisées pour 15 locus polymorphes (GLASZMANN, 1987). Elle a permis de distinguer six groupes : deux majeurs (I et VI), à distribution panasia-

tique, deux mineurs (II et V), localisés essentiellement sur les contreforts himalayens d'Asie du Sud, et deux très particuliers (III et IV), restreints aux zones de submersion profonde du Bangladesh. Le groupe I représente les formes typiques *indica* et le groupe VI, les formes typiques *japonica*. Le groupe II contient notamment les riz de l'écotype « aus » du nord de l'Inde et du Bangladesh. Le groupe V est représenté par les riz de qualité particulière (arôme, élongation à la cuisson) du groupe « basmati » d'Inde et du Pakistan. Les groupes III et IV correspondent à des riz flottants, dont certains, comme le « rayada » du groupe IV, sont capables d'allonger leurs tiges sur plus de 5 mètres.

Un échantillon A de 270 variétés, constitué pour représenter la diversité géographique, écotypique et enzymatique des riz cultivés d'origine asiatique (voir annexe), a été utilisé pour une analyse similaire. Les 15 locus permettent de révéler 57 formes alléliques. Ces données ont été soumises à une analyse factorielle des correspondances (AFC). La part de variation expliquée par les axes de l'AFC décroît très rapidement, puisqu'elle est de 18,7 %, 9,2 %, 7,9 %, 6,3 % et 5,1 % pour les axes 1 à 5. Cette décroissance rapide illustre une structure très marquée. La figure 1 montre la distribution des accessions dans le plan 1-2 de l'AFC. Les six groupes, I à VI, se retrouvent, en conformité avec les résultats obtenus sur des échantillons plus vastes.

Les RFLP

Un échantillon B de 147 variétés a été analysé grâce à 202 sondes (voir annexe). Parmi elles, 148, soit 74 %, ont révélé du polymorphisme et produit au total 482 bandes polymorphes. Ces données ont été soumises à une AFC. La part de variation expliquée par les axes de l'AFC décroît très vite, puisqu'elle est de 16,5 %, 6,2 %, 4,4 %, 3,8 % et 3,1 % pour les axes 1 à 5, dénotant, comme pour les isoenzymes, une structure générale marquée.

La figure 2a montre la distribution des 147 variétés étudiées dans le plan 1-2. La position des variétés sur le premier axe est de loin celle qui les caractérise le mieux. Il est particulièrement intéressant de remarquer que cet axe représente la variation entre les variétés *indica* de référence (groupe isoenzymatique I) et *japonica* de référence (groupe isoenzymatique VI). Les groupes II, III, IV, V et « intermédiaires » apparaissent globalement en position intermédiaire entre *indica* et *japonica* de référence, avec cependant un faible pourcentage d'allèles originaux. A cette remarque près, *O. sativa* apparaît donc bien comme organisé selon un axe principal de variation *indica-japonica*.

Dans l'analyse fine de la diversité d'*O. sativa*, l'axe 3 laisse apparaître un résultat nouveau : la différenciation de la sous-espèce *japonica* en deux groupes, l'un « tempéré », qui comprend les variétés de régions tempérées et tropicales d'altitude, l'autre « tropical », qui inclut les variétés de riz pluvial. Cette différenciation se fait sur la base de quelques locus seulement et recoupe la différenciation morphologique de Oka (1958).

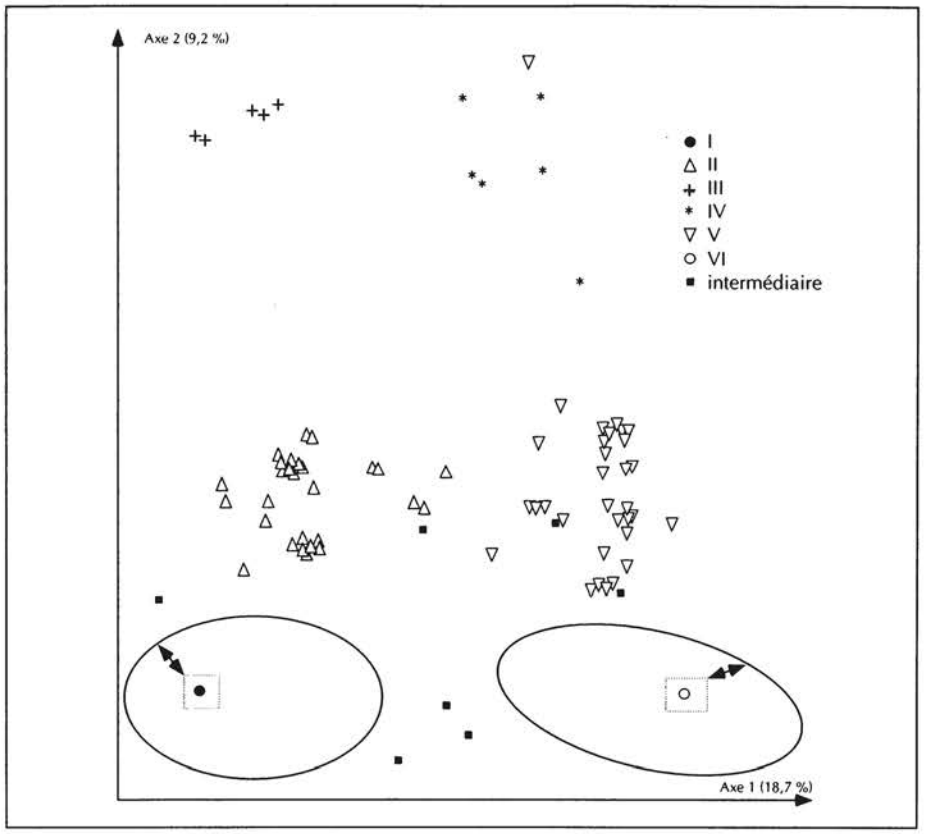

Figure 1. Distribution dans le plan 1-2 de l'AFC sur les données isoenzymatiques (15 locus et 57 allèles) caractérisant l'échantillon A.

Enfin, deux sondes RFLP supplémentaires caractérisent la diversité du cytoplasme en fonction de données antérieures qui avaient permis d'identifier deux types principaux, tant au niveau chloroplastique (Dally et Second, 1990) qu'au niveau mitochondrial (Second et Wang, 1992). La figure 2b montre la distribution des deux types cytoplasmiques parmi 141 des 147 variétés. Il est clair que l'un des types caractérise la sous-espèce *indica* et certains intermédiaires, alors que l'autre type se rencontre dans tous les groupes variétaux.

Les microsatellites

La diversité des microsatellites a été étudiée pour 12 locus *(RM7, RM12, RM13, RM19, RM122, RM148, RM164, RM167, RM168, OSR4, OSR7, OSR35)* au sein d'un sous-ensemble de 54 variétés représentatives des éléments de structure connus (voir annexe). Les locus ont révélé entre 4 et 19 allèles par locus, avec une moyenne de 10,8. Une AFC a été effectuée sur les données obtenues, soit 130 allèles. Les premiers axes expliquent 6,0 %, 5,8 %, 4,8 %,

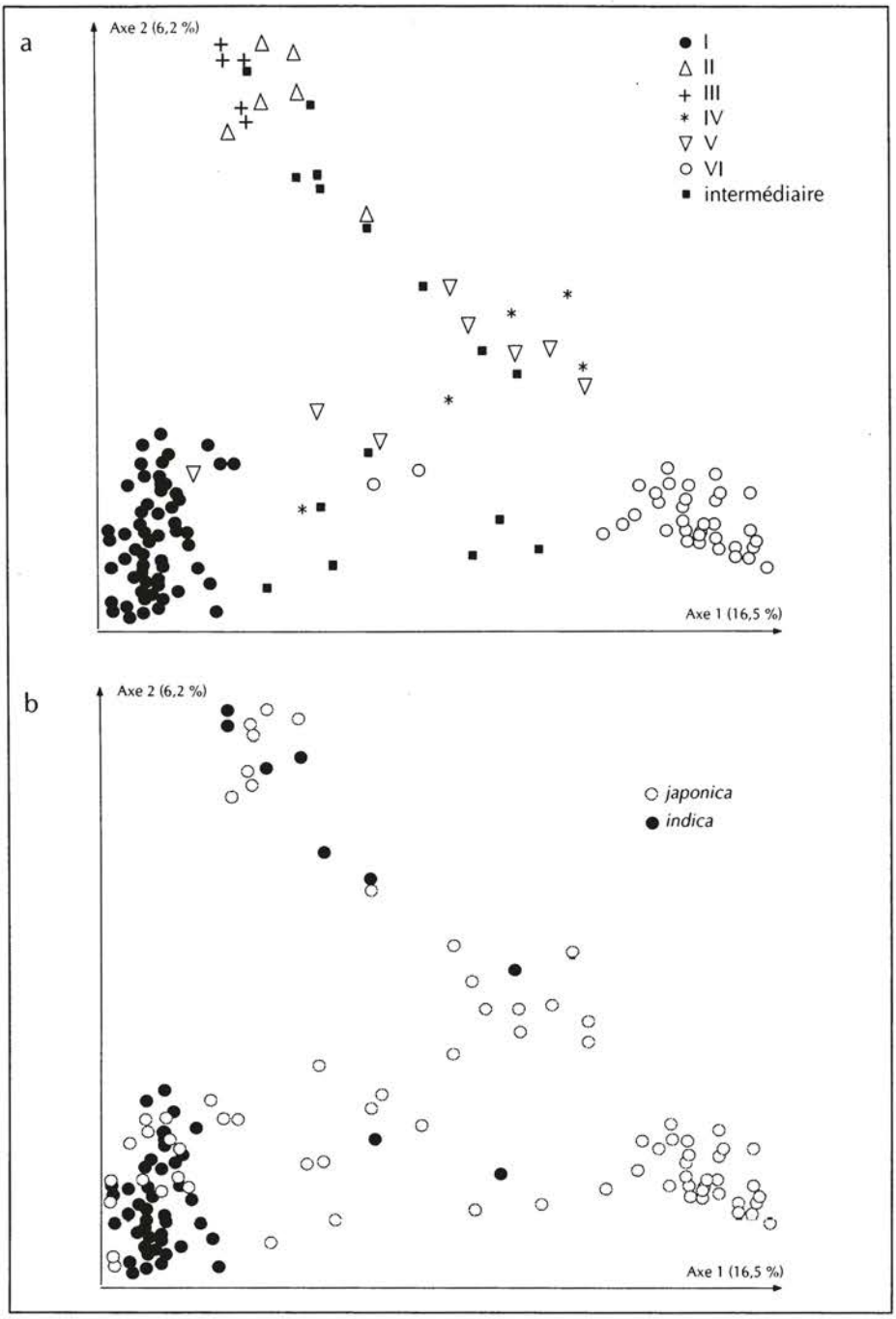

Figure 2. Distribution dans le plan 1-2 de l'AFC sur les données RFLP (202 sondes nucléaires et 482 bandes) caractérisant l'échantillon B, avec a) indication de la classification enzymatique et b) indication du type cytoplasmique, d'après DALLY *et* SECOND *(1990).*

4,7 % et 3,9 % de la variation ; cette décroissance lente révèle une structure relativement peu marquée. Le plan 1-2 de l'AFC (figure 3) met en évidence trois ensembles : le premier correspond au groupe I de la classification enzymatique, le deuxième aux groupes II et III, le troisième aux groupes IV, V et VI. Les axes 3 et 4 séparent les groupes IV, V et VI. En revanche, les groupes II et III restent confondus. On trouve une grande diversité à l'intérieur des groupes.

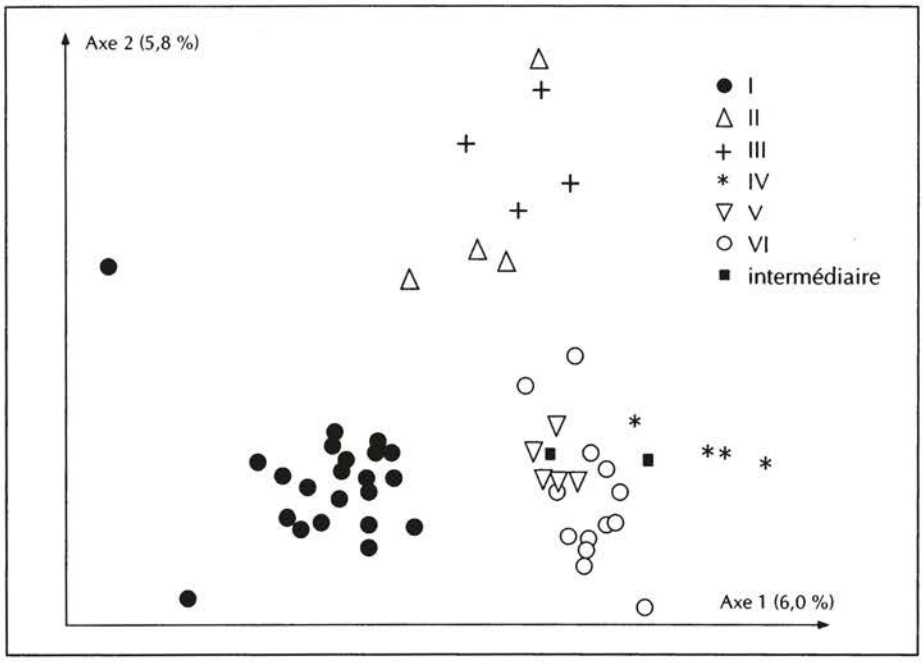

Figure 3. Distribution dans le plan 1-2 de l'AFC sur les données microsatellites (12 locus et 130 allèles) caractérisant un échantillon de 54 variétés communes à A et B.

La comparaison des différents marqueurs

Les études les plus vastes (isoenzymes) et les plus approfondies (RFLP) donnent la même image de l'espèce : une structure fortement bipolaire avec néanmoins quelques formes particulières, partiellement intermédiaires. Avec les microsatellites, on conserve la discrimination entre les groupes les plus différenciés, mais on révèle un polymorphisme élevé au sein des groupes. La figure 4 montre les relations entre les distances génétiques intergroupes évaluées à partir des différents types de marqueurs. Les disparités entre les nombres d'accessions et de locus pris en compte pour chacun de ces types limitent les conclusions que l'on peut tirer de cette comparaison. On note cependant que, par rapport aux RFLP et aux isoenzymes, les microsatellites amplifient considérablement les distances génétiques entre groupes et que, parmi les comparai-

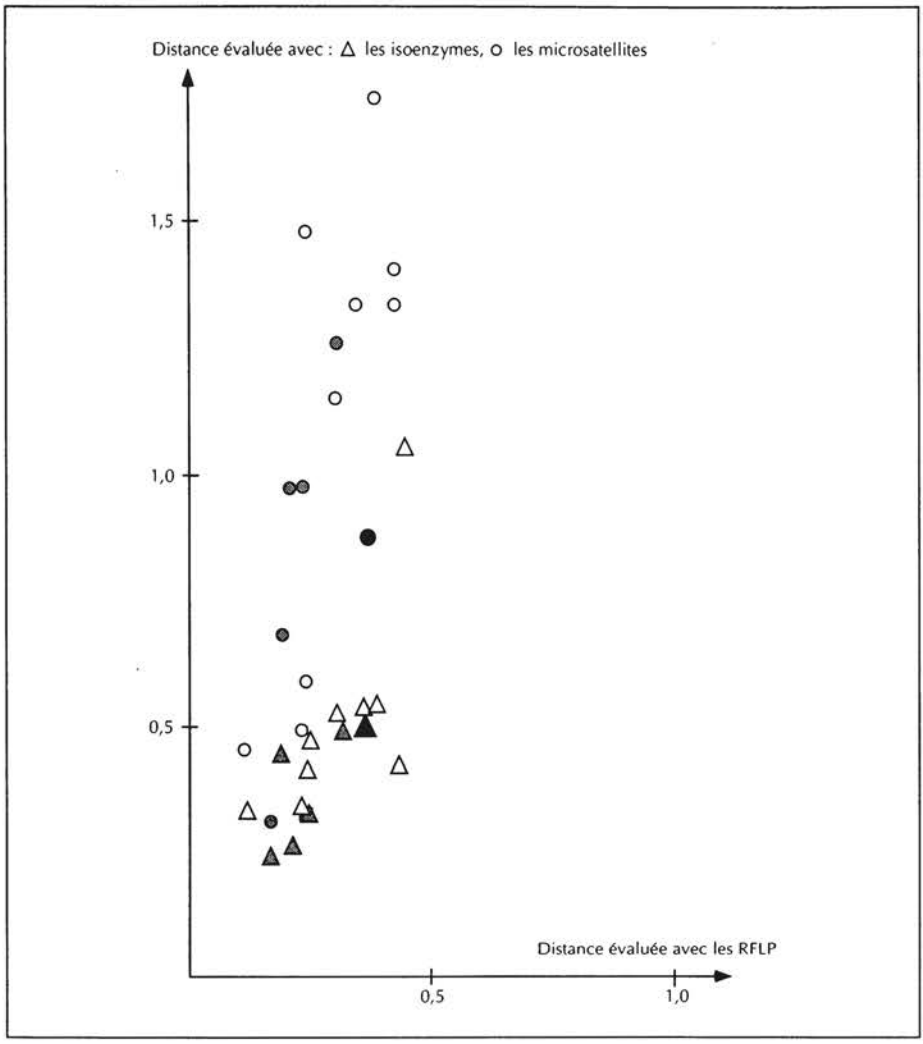

Figure 4. Comparaison entre les distances évaluées avec les RFLP, les isoenzymes et les microsatellites.
Les symboles en noir caractérisent les distances entre les deux groupes principaux I et VI ; les symboles en gris celles entre les groupes de grande taille, I, II, V et VI ; les symboles en blanc celles qui impliquent un groupe de petite taille, III ou IV.

sons entre les groupes de plus grande taille (groupes I, II, V, VI), la distance entre les groupes I et VI est la plus grande avec les RFLP comme avec les isoenzymes, alors qu'elle est loin de l'être avec les microsatellites.

Ainsi, les microsatellites révèlent un polymorphisme plus important, qui affine la résolution dans les groupes généralement les moins polymorphes. Ce polymorphisme préserve l'empreinte générale de la structure de l'espèce mais jette un flou sur les relations entre les groupes.

La classification moléculaire et la diversité pour des caractères d'intérêt agronomique

La diversité morphologique

Les données de caractérisation de l'échantillon A disponibles à l'IRRI ont été récupérées. Un total de 248 variétés présentait des données complètes pour 11 variables ; parmi ces variétés tous les groupes enzymatiques étaient représentés à l'exception du groupe IV, qui fleurit difficilement dans les conditions de l'IRRI. Ces données ont été soumises à une analyse en composantes principales (ACP). La part de variation expliquée par les axes est de 31,3 %, 19,1 %, 12,0 %, 7,9 % et 7,0 % pour les axes 1 à 5. La figure 5 montre la distribution des accessions dans le plan 1-2. L'axe 1 sépare les variétés à longs organes (ligules, feuilles, tiges et, dans une moindre mesure, panicules) et à grain plutôt étroit, qui se trouvent du côté des valeurs négatives, des variétés complémentaires, qui se situent du côté des valeurs positives. L'axe 2 attire vers les valeurs négatives les variétés à faible tallage, à feuille large, à tige plutôt épaisse et à grain large et lourd. On reconnaît ainsi la structure tripolaire avec les types Indica dans la partie supérieure gauche du plan, les Japonica dans la partie extrême droite du plan et les Javanica dans partie extrême inférieure du plan.

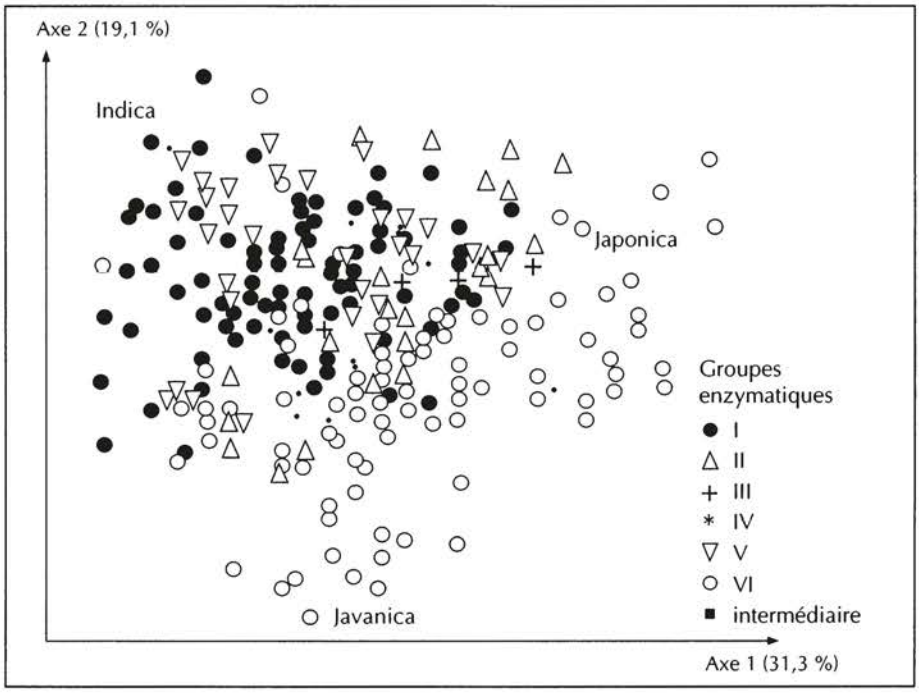

Figure 5. Distribution dans le plan 1-2 de l'ACP de la variation parmi 248 variétés pour 11 caractères morphologiques.

Le type morphologique Indica recouvre des groupes très diversifiés sur le plan des marqueurs moléculaires, avec surtout des représentants des groupes I et V, mais aussi des groupes II et VI. Les formes morphologiques typiques des Japonica et des Javanica correspondent au seul groupe VI. Alors que les groupes I et VI occupent des zones du plan quasiment séparées, les accessions des groupes II à V sont plus fréquentes à la frontière entre ces deux zones principales.

Au sein du groupe VI, très dispersé sur le plan, on note une différenciation entre les origines géographiques, qui oppose les formes tempérées (pôle Japonica) aux formes tropicales (pôle Javanica). Entre ces deux pôles, on trouve des variétés d'origine tempérée, subtropicale ou tropicale, mais surtout des variétés tropicales d'altitude issues des régions montagneuses d'Asie du Sud-Est et d'Asie du Sud. Cette répartition illustre les observations réalisées par GLASZMANN et ARRAUDEAU (1986) : on a en fait, avec les types morphologiques Japonica et Javanica, deux formes qui se différencient sur une base génétique étroite et représentent les extrêmes d'une variation continue qui suit un cline géographique selon la latitude et l'altitude. La distinction classique entre ces deux types est probablement due au fait que les premières études de diversité morphologique ont été effectuées sur des échantillons dans lesquels les types originaires du Japon et de Java, zones plus accessibles aux collecteurs que les montagnes d'Asie du Sud-Est ou du Sud, étaient surreprésentés. Les données RFLP montrent un cline similaire avec la dispersion des variétés sur l'axe 3 de l'AFC.

LA DIVERSITÉ DE RÉACTION À DIVERS PATHOGÈNES

Les 270 variétés de l'échantillon A ont été testées pour leur réaction à l'égard des principales maladies fongiques, bactériennes et virales (BONMAN *et al.*, 1990 ; GLASZMANN *et al.*, 1995). Cette collection a permis de révéler une très grande diversité de réponses. Deux exemples en sont donnés ici.

La pyriculariose, due au champignon *Magnaporthe grisea,* est la principale maladie fongique du riz. Il existe une grande variabilité chez le champignon et de nombreux gènes de résistance sont connus chez la plante. Le repérage de ces gènes de résistance représente un enjeu majeur. Les accessions de l'échantillon A ont été inoculées avec 13 souches du champignon dans le cadre d'un réseau de collaborations. Les symptômes ont été notés d'après la taille des lésions relevée sur plusieurs plantes par accession, selon une échelle de 0 à 5. La moyenne des notes d'une accession sert à caractériser sa tolérance à l'égard de la souche utilisée. Une ACP a été réalisée sur les données complètes obtenues pour 257 accessions (figure 6a). L'axe 1 sépare les variétés généralement résistantes (valeurs négatives) des variétés généralement sensibles. En Asie du Sud, où tous les groupes enzymatiques sont présents, les groupes II à V se différencient des groupes majeurs I et VI par une résistance nettement plus marquée. Parmi les variétés les plus souvent sensibles, l'axe 2 tend à différencier les variétés *indica* de référence (groupe I) des variétés *japonica* de référence (groupe VI), du fait de la sensibilité de chaque groupe à plusieurs souches dif-

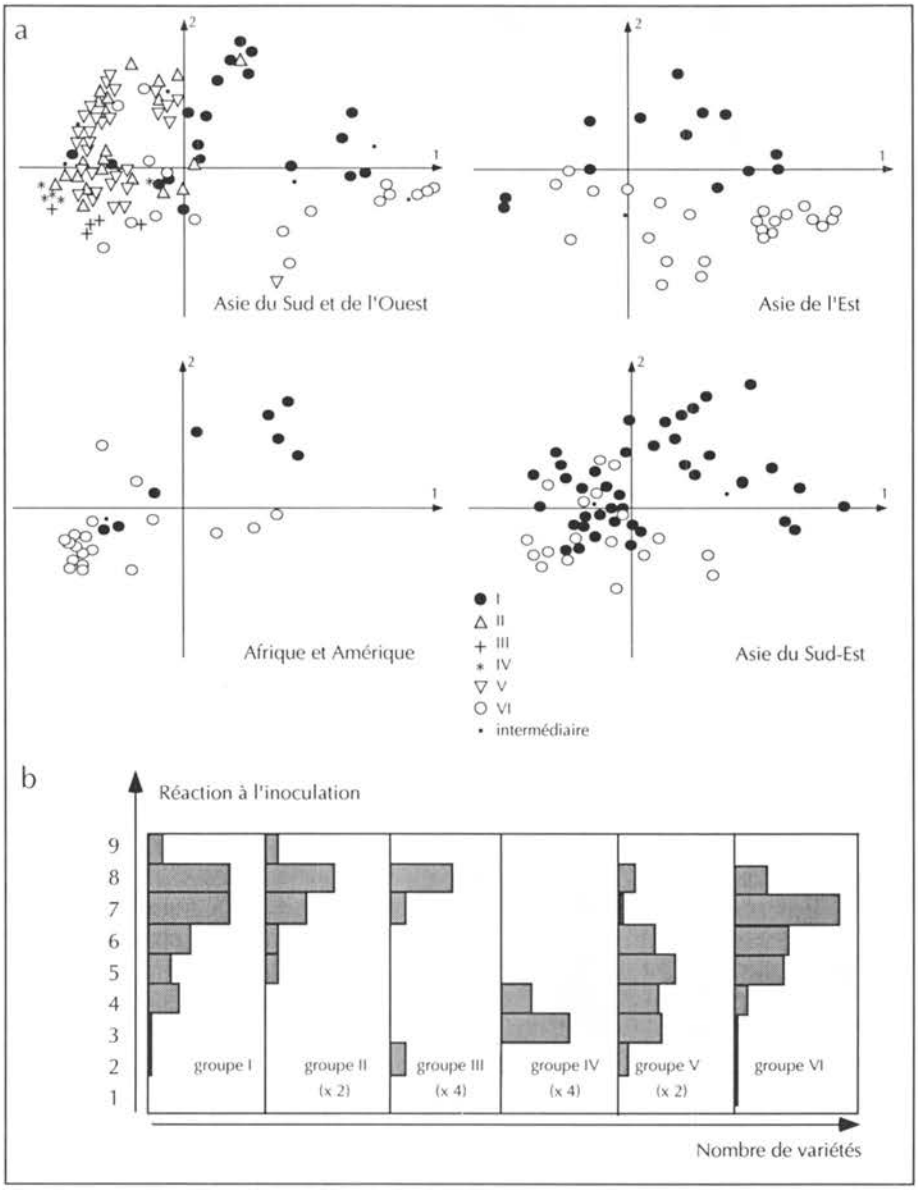

Figure 6. Réaction des variétés représentant différents groupes enzymatiques à l'égard de plusieurs parasites.
a. Résistance à la pyriculariose des variétés représentant différents groupes enzymatiques : distribution de 257 variétés dans le plan 1-2 de l'ACP sur la taille des lésions produites par l'inoculation de 13 souches de Magnaporthe grisea.
b. Tolérance relative des 6 groupes enzymatiques au virus du tungro : distribution des réactions à l'inoculation par vecteur (notation de 1 pour l'absence complète de symptômes à 9 pour la sensibilité maximale) dans un ensemble de 261 variétés représentant les différents groupes enzymatiques.

férentielles. Au sein du groupe VI, on retrouve une différenciation entre les formes tempérées (Asie du Sud et de l'Est) et les formes tropicales (Asie du Sud-Est, Afrique, Amérique). Il est difficile d'attribuer ces différences à une différenciation générale qui marque l'isolement ancien entre ces formes ou à une coévolution entre l'hôte et le pathogène. Le fait le plus marquant à retenir concerne la diversité des réponses obtenues pour des variétés d'origine géographique voisine, donc *a priori* soumises à des populations du pathogène peu ou non différenciées, en fonction de leur appartenance aux différents groupes moléculaires. Ainsi, les groupes de la classification moléculaire présentent des différences de comportement très marquées, avec des fréquences de résistance contrastées et des spécialisations fortes des souches de référence.

Le tungro est une maladie virale de première importance. Pour évaluer la résistance portée par chaque génotype, on a procédé à l'inoculation par vecteur puis noté les réactions sur une échelle de 1, pour l'absence complète de symptômes, à 9, pour la sensibilité maximale. La figure 6b montre la distribution des réactions dans un ensemble de 261 variétés selon leur appartenance aux différents groupes moléculaires. La tolérance est nettement plus fréquente dans les groupes IV et V.

Une étude pionnière avait montré que les souches du parasite fongique de la pyriculariose se classent en deux ensembles en fonction de leur réaction différentielle face aux variétés *indica* et *japonica* (Morishima, 1969). Une étude plus récente sur le flétrissement bactérien a montré que certains gènes de résistance totale se répartissent largement suivant l'appartenance des variétés aux groupes de la classification enzymatique (Busto *et al.,* 1990). Nos résultats confortent ces observations et permettent de conclure que la structuration des riz en groupes variétaux est essentielle pour comprendre les interactions hôte-pathogène et pour rechercher de nouvelles sources de résistance.

L'association entre caractères et la dynamique du génome

La diversité à Madagascar, site d'évolution insulaire

Madagascar représente un cas très particulier : l'introduction du riz asiatique y est très ancienne et l'insularité en fait un laboratoire d'évolution des riz cultivés, en limitant les influences extérieures à quelques grandes introductions en provenance vraisemblablement d'Inde, de Malaisie et d'Indonésie. L'observation par les sélectionneurs de types variétaux particuliers à Madagascar a justifié l'analyse détaillée de la diversité présente dans l'île (Rabary *et al.,* 1989 ; Ahmadi *et al.,* 1991).

Une collection de variétés malgaches a été étudiée sur les plans morphologique et isoenzymatique. Des types morphologiques tout à fait particuliers, intermédiaires entre les types Indica et Javanica, ont été trouvés avec une fréquence élevée (figure 7). La diversité enzymatique révélée est forte, mais très

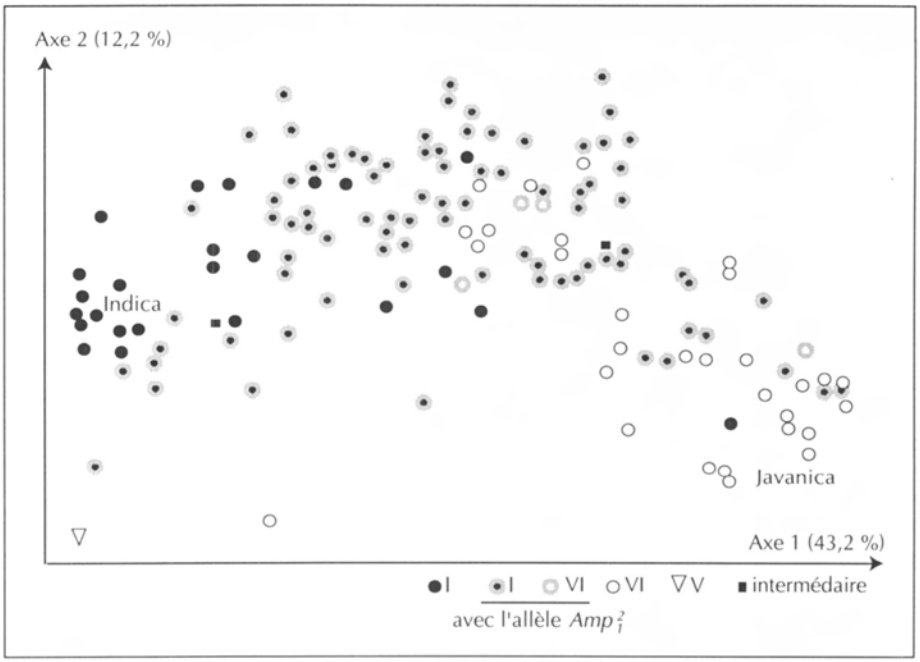

Figure 7. Distribution de 144 variétés dans le plan 1-2 de l'AFC sur 39 caractères morphologiques au sein du matériel de Madagascar. Les mêmes symboles que dans les figures précédentes indiquent l'appartenance aux groupes enzymatiques ; une distinction supplémentaire est faite pour les variétés possédant l'allèle Amp$_1^2$.

inférieure à celle des riz cultivés en Asie — l'indice de diversité H de Nei est de 0,29 à Madagascar contre 0,62 en Asie. La structure génotypique est nettement bipolaire et rappelle l'opposition *indica-japonica*. Cependant, certains types particuliers présentent un allèle codant pour une aminopeptidase, *Amp*$_1^2$, qui est très rarement observé dans les groupes enzymatiques I et VI en Asie. Parmi ces types, certaines associations classiques entre isoenzymes et caractères morphologiques sont faibles, voire inexistantes.

Ces particularités font supposer que de nombreuses recombinaisons entre groupes variétaux ont eu lieu depuis les premières introductions de riz à Madagascar. Malgré ces recombinaisons, les associations entre les isoenzymes marqueurs de la différenciation *indica-japonica* se sont maintenues, alors qu'elles impliquent des gènes situés sur de nombreux chromosomes. Cette situation démontre qu'il est possible de recombiner des gènes participant au contrôle de l'architecture de la plante, mais témoigne aussi des pressions de sélection, naturelles et humaines, qui tendent à maintenir le déséquilibre gamétique impliqué dans la différenciation *indica-japonica*. De nombreux marqueurs enzymatiques semblent situés dans des zones du génome soumises à ces pressions, ce qui confirme l'intérêt de la classification fondée sur l'analyse enzymatique.

Le génome cytoplasmique et l'orientation des flux géniques

La situation particulière de Madagascar a permis de documenter un phénomène probablement généralisé en Asie, celui de l'introgression entre *indica* et *japonica,* source de diversité des riz cultivés (Second, 1982).

Second et Ghesquiere (1995) ont confronté les caractéristiques nucléaires et cytoplasmiques au sein de l'échantillon B. Deux types cytoplasmiques se distinguent, en accord avec l'interprétation globale de l'analyse du genre *Oryza* pour les marqueurs moléculaires : un type « indica », I, et un type « japonica », J (Dally et Second, 1990 ; Second et Wang, 1992). Le type cytoplasmique japonica se rencontre seul dans les variétés du groupe VI, mais en alternance avec le type indica (distribution J:I voisine de 3:1) dans les variétés des groupes intermédiaires II à V. Il est également présent avec une fréquence significative parmi les variétés du groupe I (distribution J:I voisine de 1:3). Le cytoplasme japonica aurait donc été introgressé par nombre de variétés du groupe I, ce qui indique, étant donné l'hérédité maternelle du cytoplasme, que les hybrides à l'origine des introgressions de gènes nucléaires entre sous-espèces *indica* et *japonica* ont tous été formés par l'hybridation d'un parent femelle *japonica* pollinisé par un *indica.*

La distribution de la diversité moléculaire le long du génome

La distribution du polymorphisme le long du génome présente un biais par rapport à ce que pourrait être une distribution aléatoire (Second et Ghesquiere, 1995 ; Zhuang *et al.,* 1998). On constate une tendance significative au regroupement des locus monomorphes dans l'espèce. De même, on observe pour les variétés une tendance au regroupement des marqueurs homogènes indica ou japonica (Second *et al.,* 1995). Cela indique bien que les chromosomes du riz peuvent s'interpréter comme une mosaïque de régions issues soit du type ancestral *indica,* soit du type ancestral *japonica* et de régions monomorphes, que la dérive génétique a pu fixer au sein de l'espèce dans son état actuel à partir de l'un ou de l'autre des types ancestraux. Le cas du chromosome 12 met bien en évidence ce phénomène (Albar, 1998) : il existe des associations fortes, vérifiées à partir de plusieurs couples enzymes-sondes, entre des allèles de même origine *indica* ou *japonica* (figure 8). Ces déséquilibres de liaison s'observent entre des locus très proches (notés b), situés dans la zone centromérique du chromosome 12, ou entre ces locus et des locus nettement plus éloignés (notés a). Dans cette trame, peuvent s'intercaler des locus monomorphes ou quasi monomorphes et des locus pour lesquels le polymorphisme est indépendant de la structure *indica-japonica* (notés c, d et e). Ces derniers représentent vraisemblablement des zones soumises aux pressions de sélection de manière différente, comme cela a été observé autour de certains locus isoenzymatiques dans les variétés de Madagascar.

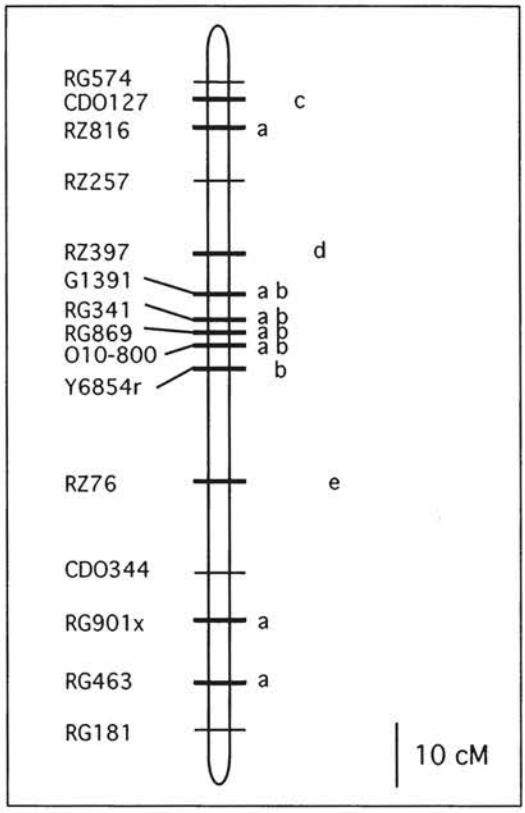

Figure 8. Déséquilibre de liaison le long du chromosome 12. Sur la base de l'analyse du polymorphisme au sein de l'échantillon B, 11 locus sur les 15 testés ont été trouvés polymorphes et sont indiqués par une barre horizontale plus épaisse. Les déséquilibres de liaison entre locus ont été testés sur la base des deux allèles les plus fréquents. Les locus en déséquilibre significatif (p < 0,01) entre eux sont indiqués par la présence d'une même lettre à coté de la barre horizontale.

Conclusion

Le cas des riz cultivés asiatiques présente la particularité d'inclure une diversité très large, puisque les groupes indica et japonica représentent presque deux espèces différentes si l'on accepte l'hypothèse d'une origine double à partir de populations sauvages déjà différenciées (Second, 1982 ; 1984). On a donc une structure très marquée, que l'on retrouve avec les divers types de marqueurs utilisés. On voit bien les apports complémentaires de marqueurs comme les isoenzymes et les RFLP, d'un côté, les microsatellites, de l'autre. Les isoenzymes et les RFLP donnent des images semblables et des indices de différenciation comparables ; les RFLP, du fait qu'ils sont plus nombreux, permettent de mettre en évidence un élément supplémentaire : la différenciation écogéographique entre les formes Japonica tempérées et tropicales. Les microsatellites mémorisent moins bien une structuration ancienne *(indica-japonica)*, mais révèlent une variabilité plus étendue à l'intérieur de chaque composante.

Les marqueurs moléculaires apportent des éléments importants, inaccessibles avec la seule diversité morphologique : plusieurs groupes (I à V) sont identifiés à l'intérieur d'un ensemble considéré comme homogène sur le plan morpholo-

gique. En revanche, la continuité entre deux types morphologiques différents, Japonica et Javanica, apparaît clairement, ce qui vient corroborer les conclusions tirées de l'examen du comportement des descendances hybrides : elles sont généralement fertiles et se fixent rapidement au fil des autofécondations successives.

Par rapport aux travaux de classification antérieurs, les marqueurs moléculaires attirent l'attention sur des formes particulières, représentées par les groupes II à V de la classification enzymatique. Ces résultats recoupent différentes observations réalisées par les sélectionneurs, comme le comportement particulier des types « aus » (groupe II) en croisement avec des variétés *indica* et *japonica* typiques (WAN et IKEHASHI, 1997) ou celui des variétés « basmati » (groupe V), de morphologie Indica mais très difficiles à exploiter en combinaison avec les variétés à haut rendement du groupe I (G.S. Khush, comm. pers.). Nos résultats sur le comportement des variétés face aux principales maladies illustrent également la particularité de ces groupes, qui viennent élargir les sources de résistance présentes dans les groupes majeurs. L'identification de ces groupes a été rendue possible par une approche d'échantillonnage structurée. Un premier lot de 1 688 variétés asiatiques a été constitué en diversifiant au maximum l'origine géographique et l'environnement de culture et en tenant compte des classifications locales (GLASZMANN, 1987). Cet échantillon a été élargi ensuite à d'autres continents. La structuration en groupes enzymatiques a été utilisée pour surreprésenter les sous-ensembles riches en diversité particulière. Cette démarche a permis de constituer une collection « noyau » de taille acceptable pour des évaluations fines.

Les résultats de ces évaluations confortent la démarche générale. On constate, par exemple, que les groupes mineurs recèlent des sources de résistance originales à la pyriculariose ou au tungro et que les variétés japonica d'Afrique sont généralement plus résistantes à la pyriculariose que celles d'Asie. Ces associations internes à l'échantillon mettent en évidence des paramètres simples à appréhender — origine géographique, type de culture, classification établie à l'aide de quelques marqueurs choisis... — qu'il convient de diversifier pour enrichir la collection. *A contrario,* on peut se servir des résultats pour rechercher rapidement des variétés qui font exception aux associations ou aux corrélations générales afin de progresser dans une direction de sélection précise. On peut par exemple, si l'on veut produire des variétés à faible tallage et à longue panicule fournie (caractéristiques générales du groupe VI), mais aussi à grain fin (caractéristique des autres groupes), sélectionner parmi les variétés du groupe VI, qui ont généralement un grain large, celles qui ont le grain le plus fin. Cette démarche sera plus efficace que celle qui vise à recombiner ces caractères entre les groupes : on évitera les complications liées aux recombinaisons intergroupes, dont tout indique qu'elles perturbent des agencements de facteurs coadaptés ; on tirera profit de l'accumulation de facteurs de finesse du grain dans certaines variétés possédant le fond génétique recherché, que cette accumulation soit le résultat d'une juxtaposition de facteurs dispersés

dans les populations du groupe VI ou de l'introgression réussie de facteurs spécifiques des autres groupes.

Nos observations mettent en évidence une multitude d'associations entre caractères moléculaire et caractères quantitatifs, du fait de l'existence de groupes variétaux différenciés pour les deux types de caractères, comme l'ont observé VIRK *et al.* (1996). De telles associations ont schématiquement deux déterminants principaux.

Le premier est un effet de fondation au moment de la domestication, venant éventuellement renforcer l'action conjuguée de la sélection naturelle et de la dérive génétique qui ont différencié les populations fondatrices. L'origine probablement séparée des types *indica* et *japonica* à partir de formes ayant divergé depuis 2 à 3 millions d'années (SECOND, 1985) donne une importance particulière à ce phénomène chez le riz asiatique et explique l'omniprésence d'associations. L'origine des groupes mineurs reste à établir. Il est néanmoins clair à la lumière de nos résultats que, même en l'absence d'une interprétation globale satisfaisante, les données moléculaires peuvent constituer une source d'information précieuse pour diversifier les sources de gènes utiles. Ce raisonnement a une efficacité déjà éprouvée dans la pratique (KAMESWARO-RAO et JACKSON, 1997).

Le deuxième déterminant est l'introgression entre types ancestraux. De nombreuses études, dont la nôtre sur les riz de Madagascar, montrent que les échanges géniques entre variétés de types différents sont fréquents. Néanmoins, s'il y avait recombinaison généralisée, les associations disparaîtraient rapidement au cours du temps. La possibilité d'évaluer la diversité moléculaire avec des marqueurs cartographiés sur le génome présente dans ce contexte beaucoup d'intérêt. Les résultats disponibles suggèrent que le polymorphisme moléculaire est distribué sur le génome par plages non aléatoires (SECOND et GHESQUIERE, 1995 ; ZHUANG *et al.*, 1998). Il pourrait avoir un potentiel discriminant différencié, en particulier pour le groupe variétal II, selon la position de ces marqueurs par rapport aux centromères (PARSONS *et al.*, 1997). Ces phénomènes méritent d'être étudiés plus en détail, comme cela a été le cas pour le chromosome 12 (ALBAR, 1998). Dans la recherche de QTL pour la résistance partielle au virus de la panachure jaune du riz (RYMV), la mise en évidence d'interactions entre marqueurs — ou entre marqueurs et QTL — dispersés sur le génome mais appartenant chaque fois à des zones à fort déséquilibre de liaison *indica-japonica* peut illustrer l'importance des phénomènes de coadaptation chez une plante comme le riz cultivé d'origine asiatique (PRESSOIR *et al.*, 1998). Dans l'état actuel des connaissances, nous retiendrons que les associations apparentes sont le résultat de deux phénomènes : d'une part, des déséquilibres de liaison qui impliquent des gènes et des marqueurs étroitement liés sur le génome, d'autre part, des associations entre gènes coadaptés qui peuvent être dispersés sur le génome.

La mise en place d'une base de données de caractérisation moléculaire et d'évaluation détaillée pour des caractères agronomiques sur des lignées pures, issues de croisements contrôlés, mais aussi non apparentées, devrait permettre d'accumuler les résultats et de mieux connaître, comprendre et utiliser la dynamique d'évolution de la diversité génétique des riz.

Annexe

Matériel végétal

Les résultats présentés correspondent à une mise en perspectives de travaux parfois anciens et déjà partiellement décrits et de données nouvelles.

Sur la base d'informations rassemblées avant 1985, un premier échantillon de 270 variétés, l'échantillon A, a été constitué pour représenter la diversité géographique, écotypique et enzymatique des riz cultivés d'origine asiatique. Les échantillons ont été purifiés — passage par une plante et autofécondations contrôlées —, afin de servir de collection de référence pour étudier la diversité pour des caractères utiles (Bonman *et al.*, 1990 ; Glaszmann *et al.*, 1995). Ces variétés sont ici utilisées pour confronter la classification obtenue à partir des isoenzymes avec la diversité morphologique et la diversité de réponse à plusieurs parasites. Les données morphologiques sont extraites de la base entretenue par l'IRRI. Les données sur les réactions à divers pathogènes sont celles qui ont été rapportées par Glaszmann *et al.* (1995).

Un deuxième échantillon de 147 accessions, l'échantillon B, a servi à analyser la diversité au moyen des RFLP pour 202 sondes nucléaires cartographiées couvrant l'ensemble du génome du riz. Parmi ces accessions, 141 ont été analysées à l'aide de deux sondes de l'ADN cytoplasmique : une sonde située au niveau de la mutation 28 de l'ADN chloroplastique (Dally et Second, 1990) et la sonde mitochondriale Col (Second et Wang, 1992).

Le sous-ensemble commun à A et B, qui comprend 54 variétés, a été utilisé pour étudier la diversité révélée par les microsatellites ; 12 locus ont été pris en compte.

Un autre échantillon de 144 variétés de Madagascar a fait l'objet d'une étude particulière qui portait sur la comparaison des classifications moléculaire et morphologique dans un milieu insulaire isolé de l'aire d'origine (Ahmadi *et al.*, 1991). Vingt-quatre caractères quantitatifs codés selon une distribution en grandes classes ainsi que 15 caractères qualitatifs ont été utilisés.

Analyse des données

L'analyse des données repose essentiellement sur l'utilisation de l'analyse en composantes principales (ACP) pour des données de type quantitatif et de l'analyse factorielle des correspondances (AFC) pour des données de type qualitatif.

Une comparaison de différents marqueurs a été réalisée en quantifiant la diversité génétique entre groupes variétaux à l'aide de l'indice de distance de Nei (1978).

Références bibliographiques

AHMADI N., GLASZMANN J.C., RABARY E., 1991. Traditional highland rices originating from intersubspecific recombination in Madagascar. *In :* Rice genetics II. Manille, Philippines, IRRI, p. 67-79.

ALBAR L., 1998. Etude des bases génétiques de la résistance partielle du riz au virus de la panachure jaune (RYMV) : cartographie moléculaire et relation avec la diversité génétique. Thèse de doctorat en sciences, université Paris XI, Paris, France, 187 p.

BLAIR N.W., PANAUD O., MCCOUCH S.R., 1999. Inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics, 98 : 780-792.

BONMAN J.M., MACKILL A.O., GLASZMANN J.C., 1990. Resistance to *Gerlachia oryzae* in rice. Plant Disease, 74 : 306-309.

BUSTO G.A., OGAWA T., ENDO N., TABIEN R.E., IKEDA R., 1990. Distribution of genes for resistance to bacterial blight of rice in Asian countries. Rice Genetics Newsletter, 7 : 127-128.

CHANG T.T., 1976. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices. Euphytica, 25 : 435-441.

CHANG T.T., ADAIR C.R., JOHNSTON T.H., 1984. The conservation and use of rice genetic resources. Advances in Agronomy, 35 : 37-90.

CHENG K.S., WANG X.K., ZHOU J.W., LU Y.X., LOU J., HUANG H.W., 1984. Studies on indigenous rices in Yunnan and their utilization. 2. A revised classification of Asian cultivated rice. Acta Agronomica Sinica, 10 : 271-280 (en chinois).

DALLY A.M., SECOND G., 1990. Chloroplast DNA diversity in wild and cultivated species of rice (genus *Oryza,* section *Oryza*): cladistic-mutation and genetic-distance analysis. Theoretical and Applied Genetics, 80 : 209-222.

GLASZMANN J.C., 1985. A varietal classification of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.) based on isozyme polymorphism. *In :* Rice genetics I. Manille, Philippines, IRRI, p. 83-90.

GLASZMANN J.C., 1987. Isozymes and classification of Asian rice varieties. Theoretical and Applied Genetics, 74 : 21-30.

GLASZMANN J.C., 1988. Geographic pattern of variation among Asian native cultivars (*Oryza sativa* L.) based on fifteen isozyme loci. Genome, 30 : 782-792.

GLASZMANN J.C., ARRAUDEAU M., 1986. Rice plant type variation: Japonica-Javanica relationships. Rice Genetics Newsletter, 3 : 41-43.

GLASZMANN J.C., BENOIT H., ARNAUD M., 1984. Classification des riz cultivés (*Oryza sativa* L.) : utilisation de la variabilité isoenzymatique. L'Agronomie tropicale, 39 : 51-66.

GLASZMANN J.C., MEW T., HIBINO H., KIM C.K., VERGEL DE DIOS-MEW T.I., VERA CRUZ C.H., NOTTEGHEM J.L., BONMAN J.M., 1995. Molecular variation as a diverse source of disease resistance in cultivated rice. *In :* Rice genetics III. Manille, Philippines, IRRI, p. 460-465.

ISHII T., BRAR D.S., SECOND G., TSUNEWAKI K., KHUSH G.S., 1995. Nuclear differentiation in Asian cultivated rice as revealed by RFLP analysis. Japanese Journal of Genetics, 70 : 643-652.

JACKSON M.T., 1997. Conservation of rice genetic resources: the role of the international rice genebank at IRRI. Plant Molecular Biology, 35 : 61-67.

KAMESWARO-RAO N., JACKSON M.T., 1997. Variation of seed longevity of rice cultivars belonging to different isozyme groups. Genetic Research and Crop Evolution, 44 : 159-164.

LOLO O.M., SECOND G., 1988. Peculiar genetic characteristics of *Oryza rufipogon*. Rice Genetics Newsletter, 5 : 67-70.

MACKILL D.J., 1995. Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. Crop Science, 35 : 889-894.

MORISHIMA H., 1969. Differentiation of pathogenic races of *Pyricularia oryzae* into two groups, indica and japonica. SABRAO Newsletter, 1 : 81-94.

NEI M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89 : 583-590.

OKA H.I., 1958. Intravarietal variation and classification of cultivated rice. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, 18 : 78-89.

PARSONS J.B., NEWBURY H.J., JACKSON M.T., FORD-LLOYD B.V., 1997. Contrasting genetic diversity relationships are revealed in rice (*Oryza sativa* L.) using different marker types. Molecular Breeding, 3 : 115-125.

PRESSOIR G., ALBAR L., AHMADI N., RIMBAULT I., LORIEUX M., FARGETTE D., GHESQUIERE A., 1998. Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. 2. Evidence of a complementary epistasis between two QTLs. Theoretical and Applied Genetics, 97 : 1155 -1161.

RABARY E., NOYER J.L., BENYAYER P., ARNAUD M., GLASZMANN J.C., 1989. Variabilité génétique du riz (*Oryza sativa* L.) à Madagascar : origine de types nouveaux. L'Agronomie tropicale, 44 : 305-312.

SECOND G., 1982. Origin of the genic diversity of cultivated rice (*Oryza sativa* L.): study of the polymorphism scored at 40 isozyme loci. Japanese Journal of Genetics, 57 : 25-57.

SECOND G., 1985. Evolutionary relationships in the *Sativa* group of *Oryza* based on isozyme data. Génétique, sélection, évolution, 17 : 89-114.

SECOND G., GHESQUIERE A., 1995. Cartographie des introgressions réciproques entre les sous-espèces indica et japonica de riz cultivé (*Oryza sativa* L.). *In :* Colloque techniques et utilisations des marqueurs moléculaires. Paris, France, Inra, les Colloques de l'Inra n° 72, p. 83-93.

SECOND G, PARCO A., CAIOLE A., 1995. The hybrid origin hypothesis of cultivated rice *(Oryza sativa)* explains some of the gaps in its RFLP maps and suggests an efficient mapping population for useful genes and QTLs. *In :* Plant genome and plastome: their structure and evolution, K. Tsunewaki éd., Tokyo, Japon, Kodansha Scientific, p. 129-136.

SECOND G., WANG Z.Y., 1992. Mitochondrial DNA RFLP in genus *Oryza* and cultivated rice. Genetic Research and Crop Evolution, 39 : 125-140.

VIRK P.S., FORD-LLOYD B.V., JACKSON M.T., NEWBURY H.J., 1995. Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. Heredity, 74 : 170-179.

VIRK P.S., FORD-LLOYD B.V., JACKSON M.T., POONI H., CLEMENO T.P., NEWBURY H.J., 1996. Predicting quantitative traits in rice using molecular markers and diverse germplasm. Heredity, 76 : 296-304.

WAN J., IKEHASHI H., 1997. Identification of two types of differentiation in cultivated rice (*Oryza sativa* L.) detected by polymorphism of isozymes and hybrid sterility. Euphytica, 94 : 151-161.

WANG Z.Y., TANKSLEY S.D., 1989. Restriction fragment length polymorphism in *Oryza sativa* L. Genome, 32 : 1113-1118.

YANG G.P., SAGHAI MAROOF M.A., XU C.G., ZHANG Q., BIYASHEV R.M., 1994. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice. Molecular and General Genetics, 245 : 187-194.

ZHANG Q., SAGHAI MAROOF M.A., LU T.Y., SHEN B.Z., 1992. Genetic diversity and differentiation of *indica* and *japonica* rice detected by RFLP analysis. Theoretical and Applied Genetics, 83 : 495-499.

ZHOU H., GLASZMANN J.C., CHENG K.S, SHI X., 1988. A comparison of methods in classification of cultivated rice. Chinese Journal of Rice Science, 2 : 1-7 (en chinois).

ZHU J., GALE M.D., QUARRIE S., JACKSON M.T., BRYAN G.J., 1998. AFLP markers for the study of rice biodiversity. Theoretical and Applied Genetics, 96 : 602-611.

ZHUANG J.Y., QIAN H.R., ZHENG K.L., 1998. Screening of highly-polymorphic RFLP probes in *Oryza sativa* L. Journal of Genetics and Breeding, 52 : 39-48.