

Université de Montpellier II

NOTICE DE TRAVAUX
présentée pour obtenir le diplôme de :

HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES
de l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier II

par
Brigitte COURTOIS
Cirad

Juillet 2007

SOMMAIRE

I. Curriculum vitae	1
II. Encadrement ou co-encadrement	4
Contexte	4
Liste des personnes encadrées	4
III. Liste des publications	8
IV. Thématiques scientifiques abordées	15
V. Synthèse des résultats scientifiques: Amélioration de la résistance à la sécheresse du riz pluvial	16
Avant-propos	16
Les conditions agro-économiques de la production de riz pluvial en Asie et les objectifs de sélection qui en découlent	16
Sur quels caractères de résistance à la sécheresse travailler?	17
Méthode d'évaluation des caractères racinaires	18
Variabilité des ressources génétiques disponibles pour les caractères de résistance à la sécheresse	19
Déterminisme génétique des composantes du système racinaire	20
Déterminisme des performances au champ	22
<i>Stress au stade végétatif</i>	22
<i>Stress au stade reproductif</i>	23
Validation des QTLs de profondeur racinaire par sélection assistée par marqueurs	24
Développement de lignées quasi-isogéniques par une approche de back-cross-avancé	25
Approche gènes candidats	26
Conclusion	26
VI. Projet de recherche: Bases génétiques de la résistance à la sécheresse chez le riz : des QTLs aux gènes puis aux allèles	27
Le riz face aux défis du futur	27
Les questions de recherche	28
Des approches complémentaires développées dans l'UMR DAP	28
1. Amélioration de la précision dans la localisation des QTLs par méta-analyse	29
2. Cartographie fine de QTLs par étude d'association	30
<i>Le principe</i>	30
<i>Des problèmes méthodologiques pour évaluer le DL</i>	31
<i>Etendue du DL chez le riz</i>	31
<i>Analyse du DL à l'échelle du génome entier</i>	32
<i>Les problèmes liés à la structure des populations étudiées</i>	33
<i>D'autres éléments à prendre en compte dans les études d'association ciblées</i>	33
<i>Vers des études d'association portant sur des gènes jouant un rôle dans la résistance à la sécheresse</i>	34
2. Clonage positionnel de QTLs de profondeur racinaire	35
<i>Production de recombinants</i>	35
<i>Des méthodes efficaces de phénotypage à définir</i>	36
Perspectives à plus long terme	36
Références citées dans le document	38

CURRICULUM VITAE

Nom	Brigitte COURTOIS
Date de naissance	24/08/56
Adresse professionnelle	Cirad, TA A96/03, Avenue Agropolis, 34398 Montpellier Cedex 5 France Tél. : 04 67 61 56 94 ; Fax : 04 67 61 56 05 ; mel : brigitte.courtois@cirad.fr
Formation initiale	<ul style="list-style-type: none"> • Docteur-Ingénieur en Amélioration des plantes (1991). Université des Sciences et Techniques du Languedoc et Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier, Montpellier, France Sujet de la thèse : "Variabilité des descendances de trois croisements simples fixés par haplo-diploïdisation et par filiation unipare chez le riz" • Ingénieur agronome (1978) de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie de Montpellier, spécialisation Agronomie Méditerranéenne Sujet du DAA : "Radiosensibilité aux rayons gamma de semences d'amandier et d'abricotier"
Expériences-clés	<ul style="list-style-type: none"> • 20 ans de recherches en génétique et amélioration des plantes, pour l'essentiel sur le riz: gestion de ressources génétiques, sélection classique, interactions génotype x environnement, génétique moléculaire, génétique quantitative, sélection assistée par marqueurs, et sélection participative, sur des caractères de résistance à la sécheresse, résistance aux maladies, interférence avec les mauvaises herbes et qualité de grain. • 6 ans d'appui méthodologique en matière d'analyse de données génétiques sur des modèles variés (espèces tropicales autogames ou allogames à différents niveaux de ploïdie). • Expérience de gestion de la recherche: Animation scientifique et gestion d'une équipe de recherche. Coordination de réseaux. Elaboration, gestion scientifique et administrative de projets de recherches. Evaluation de projets de recherche.
Expérience professionnelle	<ul style="list-style-type: none"> • Depuis 2000 : Généticienne, responsable de l'équipe Bioinformatique et Génome de l'UMR "Polymorphismes d'intérêt agronomique", Montpellier, France. <ul style="list-style-type: none"> - Responsable d'une équipe de 6 bioinformaticiens permanents. Montage de l'équipe. Pilotage des développements bioinformatiques de l'UMR (biostatistiques; conception, développement et interopérabilité de systèmes d'information; bioanalyse comparative). - Appui méthodologique en matière d'analyse de données génétiques (cartographie, détection de QTLs, études d'association) sur toutes les plantes travaillées dans l'UMR. Veille technologique sur ces sujets (méthodologie et logiciels). - Activités de recherche: Déséquilibre de liaison chez le riz. Etudes d'association entre polymorphisme moléculaire dans des gènes d'intérêt et phénotype chez le riz (résistance à la sécheresse) et le sorgho (qualité de grain). Cartographie fine de QTLs de résistance à la sécheresse. Intégration de données génétiques et fouille de données chez le riz.

- **1993 -1999 : Sélectionneur riz pluvial, détachée à l'International Rice Research Institute, Plant Breeding Division, Los Baños, Philippines**
 - Responsable d'une équipe technique de 6 personnes
 - Création de variétés de riz pluvial pour l'Asie du sud et du sud-est.
 - Déterminisme génétique de la tolérance à la sécheresse et sélection assistée par marqueurs.
 - Améliorations méthodologiques de la sélection du riz pluvial (interactions génotype x environnement ; sélection participative).
 - Coordination scientifique des activités de recherche en génétique et en sélection du Consortium de recherche sur le riz pluvial regroupant des institutions de recherche d'Inde, Indonésie, Philippines, Thaïlande, Laos, Vietnam, Chine, et Brésil.
 - **1985-1992 : Sélectionneur riz pluvial pour le Cirad-CA, Station de Roujol, Petit-Bourg, Guadeloupe**
 - Responsable d'une équipe technique de 4 personnes
 - Maintien des ressources génétiques riz du CIRAD-CA.
 - Création de variétés de riz pluvial pour la Guyane française (programme navette).
 - Création variétale par culture d'anthères *in vitro*. Amélioration méthodologique de la technique de culture d'anthères.
 - Evaluation de l'intérêt de l'androgénèse pour les programmes d'amélioration génétique du riz
 - Utilisation de populations de lignées HD pour des analyses génétiques.
 - **1981-1985 : Coordonnatrice des essais variétaux du Cirad-CA, Montpellier, France**
 - Suivi de l'évaluation des créations variétales du Cirad (riz, maïs, sorgho, cultures légumières), harmonisation des méthodes, relations avec les réseaux internationaux d'évaluation, regroupement et traitement des données.
 - Diffusion des données rassemblées, conseil sur les choix variétaux, réalisation de catalogues variétaux pour les différentes espèces.
 - Synthèses documentaires sur les recherches du Cirad sur le riz pluvial.
 - **1979-1981 : Chargée d'études économiques à la Chambre régionale d'agriculture Languedoc-Roussillon - Service Economique, Montpellier, France**
 - Etudes économiques (macro-économie, comptabilité agricole, statistiques). Coordination des actions de développement agricole au niveau régional.
-
- Variétés de riz pluvial inscrites au catalogue philippin : Arayat, Apo (en collaboration avec M. Arraudeau)
 - Lignées haploïdes doublées inscrites au catalogue français : Carinam, Aychade, Ruille, Gallis (en collaboration avec G. Clément)
 - Lignées haploïdes doublées inscrites au catalogue de Côte d'Ivoire: ISDA95, IDSA96 (en collaboration avec C. Poisson)
 - Nombreuses lignées produites utilisées comme parents dans les programmes de croisements d'institutions partenaires en Asie
-
- Enseignement:
 - Cours et TD au DESS Génétique, Génomique et Technologies Avancées des Végétaux, Université de Montpellier II : Cartographie génétique. Détection de QTLs (2 fois 4h/an de 2001 à 2004)

**Certificats
d'Obtention
Végétale**

**Activités
d'enseignement et
de formation**

Expertises

- Cours au DEA Développement et Adaptation des Plantes de l'Université de Montpellier II : Cartographie génétique. Détection de QTLs (2 fois 2h/an de 2001 à 2004)
- Formation permanente:
 - Formatrice dans des séminaires de formation aux techniques de marquage moléculaires et d'analyses des données produites (1 à 2 semaines): Côte d'Ivoire (2001), Vietnam (2002), Madagascar (2004)
 - Organisatrice de sessions d'initiation à la Bioinformatique: Montpellier (2004, 2005 et 2006), Guadeloupe (2005), Madagascar (2006)
- Pour le CGIAR (2007):
Participation à la 5^{ème} revue externe de l'ADRAO-Centre du Riz pour l'Afrique (Bénin)
- Pour l'Inra (2005):
Evaluation d'un projet sur l'utilisation de la diversité de *Dioscorea alata* L. pour l'analyse génétique de la résistance à l'antracnose (Guadeloupe)
- Pour l'ANVAR (2003):
Evaluation d'un projet de recherche sur le clonage d'un gène de riz et son utilisation industrielle
- Pour la Fondation McKnight, USA (2003):
Evaluation de projets de biotechnologies incluant une composante de sélection participative en Inde (NCL, Pune, pois-chiche; Université de Bangalore, *Eleusina coracana*)
- Pour l'Agence Internationale pour l'Energie Atomique (2002):
Application des techniques de marquage moléculaire à des programmes d'amélioration génétique du riz au Vietnam (CLLRI et AGI)

Divers

- Membre du Conseil Scientifique du Bureau des Ressources Génétiques depuis 2007
- Referee pour divers journaux (Theoretical and Applied Genetics, Field Crop Research, Crop Science, Euphytica, Molecular Breeding)

Encadrement et co-encadrement

Contexte

Au cours de mon parcours professionnel, j'ai encadré plusieurs étudiants, post-doctorants ou chercheur d'institutions partenaire, dans le cadre de formation diplômantes ou non, sur des sujets concernant l'amélioration du riz (voir liste ci-dessous). Cette activité d'encadrement s'est beaucoup renforcée –et surtout énormément diversifiée– lorsque je suis devenue responsable de l'équipe Bioinformatique de mon UMR, personnellement en charge des aspects biostatistiques et de la veille scientifique et technologique sur ce thème (méthodologie et logiciels).

Les chercheurs de l'UMR travaillent à l'amélioration génétique d'une large gamme d'espèces tropicales. L'analyse du déterminisme des caractères qualitatifs ou quantitatifs utilisant des approches de cartographie génétique, de détection de QTLs, ou de génétique d'association est indispensable pour l'amélioration raisonnée de ces espèces. L'évolution rapide des méthodes et des outils logiciels justifie d'un accompagnement spécifique sur ces aspects. Les espèces sur lesquelles j'ai été amenée à travailler par ce biais comprennent, en plus du riz, le maïs, le sorgho, la canne à sucre, le bananier, le palmier à huile, le taro, le coton, le cacaoyer, ainsi que des insectes. Les situations abordées sont allées du simple au complexe en terme de ploïdie (espèces diploïdes, allopolyploïdes ou autopolyploïdes) ou en terme de population de cartographie (lignées recombinantes, croisements entre plantes hétérozygotes avec des problèmes spécifiques de détermination de phase, backcross avancés, plans de croisements connectés) avec des problématiques variées comme le montrent les sujets des articles issus de ces travaux (A24¹, A31, A33, A34, A35, A36, A39, A42, A43, A44, A45, A46). Mon niveau d'implication a été plus ou moins poussé selon les cas allant d'un encadrement léger à une responsabilité plus formelle dans l'encadrement avec participation aux comités de thèse.

Le riz, plante diploïde et autogame, représente un modèle génétique simple. Cette activité d'encadrement m'a permis une ouverture vers des problématiques génétiques plus complexes sur d'autres plantes tropicales. C'est sur cette gamme variée d'expériences que je me suis basée pour élaborer des cours et des travaux dirigés sur la cartographie génétique et la détection de QTLs destinés aux étudiants en DESS et en DEA de l'Université de Montpellier II ainsi que pour monter, avec différents collègues, des sessions de formation permanente sur l'utilisation des marqueurs moléculaires qui ont été dispensées en Côte d'Ivoire, au Vietnam, et à Madagascar.

Liste des personnes encadrées

- **Post-doctorants**

Amrou Abdlekhalek, Egypte(2007)

Etude du déséquilibre de liaison chez le riz à l'échelle du génome entier

Devenir: Chercheur en Amélioration des Plantes au Rice Research and Training Center of Sakha, Egypte

¹ Numérotation des articles selon la liste des publications; s = soumis; p = en préparation

V. Sabariappan Robin, Inde (1999-2000):

Détection de QTLs d'ajustement osmotique chez le riz (A50s, A27, CI1, CI2, CI3)

Devenir : Professeur associé d'Amélioration des Plantes et de Génétique à l'Université d'Agronomie du Tamil Nadu, Coimbatore, Inde

Lishuang Shen, Chine (1997-1999) :

Introgression de QTLs de profondeur racinaire par sélection assistée par marqueurs chez le riz (A15, A16, A18, A28, CI1, CI2, CI3)

Devenir : Chercheur bioinformaticien, Iowa State University, USA

Rattan Yadav, Inde (1995-1996) :

Détection de QTLs pour des paramètres racinaires chez le riz (A10, A15)

Devenir : Biologiste moléculaire à l'Institute of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth, Wales, UK

- **Thèses**

Vincent Le Guen, France (2006-2009) Université de Montpellier II. Co-encadrement avec M. Seguin.

*Le déséquilibre de liaison au sein de populations naturelles d'une plante pérenne allogame : l'hévéa. Etude d'association avec des gènes de résistance à *Microcyclus ulei**

Romain Philippe, France (2006-2009) Université de Montpellier II. Co-encadrement avec D. This (50%). Directeur de thèse : A. D'Hont

Diversité de gènes candidats pour la tolérance au stress hydrique chez trois espèces de céréales.

Lucio de Alencar Figueiredo, Brésil (2003-2007). Université de Montpellier II. Co-encadrement avec M. Deu (50%) Directeur de thèse : JC Glaszmann

*Analyse de la diversité des séquences et de la variabilité au niveau de gènes clés pour la qualité du grain chez le sorgho (*Sorghum bicolor ssp bicolor*) (A54p, A53p, A48s, A40)*

Marcia Marciano, Vénézuéla (2003-2007). Université de Mérida. Co-encadrement (20%). Directeur de thèse : C. Lanaud

Déséquilibre de liaison et études d'association chez le cacaoyer (A45)

Tatiana Pugh Moreno, Vénézuéla (2002-2005). Co-encadrement (20%). Directeur de thèse : C. Lanaud

Etude des déséquilibres de liaison dans une collection de cacaoyer appartenant au groupe Criollo/Trinitario et application au marquage génétique des caractères d'intérêt (A31, A45)

Devenir : Vice-ministre de l'Agriculture, Professeur à l'Institut de Génétique, Université Centrale du Vénézuéla

José Quéro, Espagne (2000-2005). Université de Montpellier II. Co-encadrement avec J-L Noyer (30%). Directeur de thèse : P. Feldmann

Diversité génétique et amélioration des taros du Vanuatu (A39)

Devenir : Chercheur dans un Laboratoire de Virologie Végétale, Madrid, Espagne

Norbert Billotte, France (2001-2004). Université de Montpellier II. Co-encadrement (10%). Directeur de thèse : C. Lanaud

Recherche et étude des locus contrôlant les caractères à déterminisme génétique complexe du palmier à huile par cartographie génétique multiparentale (A55p, A35)

Devenir : Généticien Cirad

Sharon Alleyne, Barbade, (2001-2006). University of West Indies. Co-encadrement (30%). Directeur de thèse : A. D'Hont

Marquage moléculaire de la teneur en sucre dans des populations de sélection récurrente de canne à sucre

Devenir : Chercheuse au West Indies Central Sugarcane Breeding Station, Barbade

Louise Bach-Jensen, Danemark, (1998-2001) Université Royale Agronomique et Vétérinaire du Danemark, Copenhague. Co-encadrement avec M. Olofsdotter (50%).

Directeur de thèse: S.B. Andersen

Contrôle génétique de l'allélopathie du riz (A18, A20)

Devenir : Généticienne au Danish Institute of Agricultural Sciences, Slagelse, Danemark

- **DAA / DESS / MS**

Najoi El-Azhari, France (2004). DAA Sciences et techniques en production végétale, ENESAD Dijon. (6 mois)

Etendue du déséquilibre de liaison local chez le riz : cas des marqueurs microsatellite (A56p)

Devenir : En thèse à l'Inra Dijon, UMR "Microbiologie et géochimie des sols" (2005-2008)

Daniel Fonceka, Sénégal (2003). DESS Productivité végétale : biotechnologies, génome. Université de Paris VII. Co-encadrement avec N. Ahmadi.

Construction et comparaison de deux cartes génétiques chez le riz : cas d'une population de lignées HD et d'une population de lignées SSD issues d'un même croisement (A52p)

Devenir : Chercheur au CERAAS, Sénégal

Dodelys Andriatsimalona, Madagascar (1997-1998). MS. Université de Los Baños, Philippines. Co-encadrement avec R. Zeigler.

Analyse de la composition en gènes de résistance à la pyriculariose de variétés de riz malgaches

Devenir : Chercheur en phytopathologie au FOFIFA, Madagascar. Inscrit en thèse à l'Université d'Antananarivo (2005-2008)

Eric Barthelemy, France (1992) DAA. ENSAR. (6 mois)

Améliorations des rendements en culture d'anthère de riz

Vincent Beaumont, France (1991), DAA. ENSAT (6 mois)

Effet d'un gamétocide sur les rendements en androgenèse du riz (A05)

Devenir : Chercheur à l'Université de l'Illinois, Urbana-Champaign, USA

- **Formations non diplômantes**

Bang Du, Agricultural Genetic Institute, Hanoi, Vietnam, (2004; 3 mois):

Cartographie génétique d'une population de lignées recombinantes de riz

Vanina Lenieff, France. Stage de licence. Université de Montpellier II (2004; 2 mois):

Caractérisation de lignées d'introgression de riz

Nimai Mandal et **Mukund Variar**, Central Upland Rice Research Station,

Hazaribag, Bihar, Inde (2003; 2 mois): *Analyse de QTLs dans une population de back-cross avancé de riz*

Zhanna Mukhina, All Russia Rice Research Institute, Krasnodar, Russie (2001; 1

mois): *Utilisation de marqueurs microsatellites pour la sélection du riz*

Khamdok Chongikhangutor, Lao National Rice Research Program, Luang Prabang,

Laos (1999 ; 2 mois): *Conduite d'un programme d'amélioration variétale du riz*

Rodrigo Sebidos, Visayas State University, Leyte, Philippines (1999 ; 1 mois):

Analyse isozymique de variétés de riz pluvial des Philippines

Fengyi Hu, Yunnan Academy of Science, Kunming, Chine (1998 ; 1 mois): *Analyse*

isozymique de variétés de riz pluvial du Yunnan (Chine)

Vo Thi Thu Huong, Université de Cantho, Vietnam (1996 ; 1 mois): *Analyse*

isozymique de variétés de riz pluvial du Vietnam (A11)

Abdul-Aziz Syarif, Sukarami Research Institute, Sumatra, Indonésie, (1995 ; 1 mois):

Conduite d'un programme d'amélioration variétale du riz (O05)

Masakata Hirayama, Japon (1994 ; 4 mois): *Conduite d'un programme*

d'amélioration variétale du riz

Mary Jean Du, APC Bohol, Philippines (1993 ; 1 mois): *Analyse isozymique d'une*

collection de variétés de riz des Philippines

Liste de publications

46 articles publiés ou sous presse dans revues à comité de lecture; 19 chapitres d'ouvrages; 2 mémoires; 3 communications invitées à des congrès internationaux (communications à des conférences, colloques ou ateliers de travail, notes de recherche, et affiches non comptabilisées).

Synthèse publimétrique

Journal	Nombre	Premier auteur	Rang dans discipline	Indice d'impact (2004)
Agronomy Journal	1		0.81	1,25
BMC Genomics	1		na	4,09
Crop Science	2		0.71	0,96
Euphytica	5	2	0.57	0,78
Field Crop Research	3		0.77	1,24
Gen Res Conservation and Utilisation	1		na	na
Gen Res and Crop Evolution	1		0.57	0.63
Genome	2		0.68	2,10
Heredity	1		0.51	2,02
J Agric Food Chemistry	1		0.98	2,33
J Agronomy and Crop Science	1		0.24	0,50
Molecular Breeding	2	1	1.00	2,21
Nucleic Acid Research	2		0.87	7,26
Plant and Soil	1		0.85	1,54
Plant Breeding	1		0.69	0,94
Plant Genetic Resources: Charac and Util	1		na	na
Plant Growth Regulation	1		0.72	0,69
Plant Mol Biol	1		0.97	3,51
Theoretical Applied Genetics	13	1	0.98	2,98
L'Agronomie Tropicale (revue disparue)	5	2	-	-
Cahiers Agriculture	1	1	na	na

Articles dans des revues à comité de lecture:

- A46. Reffay N, Jackson PA, D'Hont A, Besse P, Hoarau J-Y, **Courtois B**, McIntyre CL (2007) Comparative mapping between two sugarcane mapping populations identifies both new and common sugar-related QTLs. *Molecular Breeding* (sous presse)
- A45. Barry MB, Pham J-L, **Courtois B**, Billot C, Ahmadi N (2007) Rice genetic diversity at farm and village levels and genetic structure of local varieties reveal need for *in situ* conservation. *Genetic Resources and Crop Evolution* (sous presse)
- A44. Marcano M, Pugh T, Cros E, **Courtois B**, Glaszmann J-C, Engels JMM, Phillips W, Astorga C, Risterucci AM, Fouet O, Morales S, Gonzales V, Rosenberg K, Vallat I, Dagert M, Lanaud C (2007). Revisiting crop germplasm information with domestication history and association approach. *Theor Appl Genet* 114: 877-884
- A43. Barry MB, Pham J-L, Noyer J-L, Billot C, **Courtois B**, Ahmadi A (2007) Genetic diversity of the two cultivated rice species (*O. sativa* and *O. glaberrima*) in Maritime Guinea. Evidence of interspecific recombination. *Euphytica* 154 (1-2): 127-137
- A42. Barry MB, Pham J-L, Noyer J-L, **Courtois B**, Billot C, Ahmadi N (2007) Implications for *in situ* genetic resource conservation from the ecogeographical distribution of rice

- genetic diversity in Maritime Guinea. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilisation* 5(1): 45-54
- A41. Terol J, Conesa A, Colmenero JM, Cercos M, Tadeo F, Agustí J, Alós E, Andres F, Soler G, Brumos J, Iglesias DJ, Götz S, Legaz F, Argout X, **Courtois B**, Ollitrault P, Dossat C, Wincker P, Morillon R, Talon M (2007) Analysis of 13000 unique Citrus clusters associated with fruit quality, production and salinity tolerance. *BMC Genomics* 8:31
- A40. de Alencar Figueiredo LF, Davrieux F, Fliedel G, Rami J-F, Chantereau J, Deu M, **Courtois B**, Mestres C (2006). Development of NIRS equations based on a core collection to predict quality traits in sorghum grain. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54:8501-8509
- A39. Quero-García J, **Courtois B**, Ivancic A, Letourmy P, Risterucci A-M, Noyer J-L, Lebot V (2006) Genetic maps and QTL studies of yield traits of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Euphytica*, 151:187-199
- A38. Atlin GN, Lafitte HR, Tho D, Laza M, Amante M, **Courtois B** (2006) Developing rice cultivars for high-fertility upland systems in the Asian tropics. *Field Crops Research* 97: 43–52
- A37. Droc G, Ruiz M, Larmande P, Pereira A, Piffanelli P, Morel JB, Dievart A, **Courtois B**, Guiderdoni E, Périn C (2006) OrygenesDB: A database for rice reverse genetics. *Nucleic Acid Research*, 34:736-740
- A36. Dintinger J, Verger D, Caiveau S, Risterucci A-M, Gilles J, Chiroleu F, **Courtois B**, Reynaud B, Hamon P (2005) Genetic mapping of maize stripe disease resistance from the Mascarene source. *Theor Appl Genet* 111: 347-359
- A35. Billotte N, Marseillac N, Risterucci AM, Adon B, Brottier P, Baurens FC, Singh R, Herran A, Asmady, Billot C, Amblard P, Durand-Gasselin T, **Courtois B**, Asmono D, Cheah SC, Rodhe W, Ritter E, Charrier A (2005) Microsatellite-based high density linkage map in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Theor Appl Genet* 110: 754-765
- A34. Lacape J-M, Nguyen TB, **Courtois B**, Belot J-L, Giband M, Gourlot J-P, Gawryziak G, Roques S, Hau B (2005) QTL analysis of cotton fiber quality using multiple *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* backcross generations. *Crop Sci* 45 (1):123-135
- A33. Herselman L, Thwaites R, Kimmins FM, **Courtois B**, van der Merwe PJA, Seal SE (2004) Identification and mapping of AFLP markers linked to peanut (*Arachis hypogaea* L.) resistance to the aphid vector of groundnut rosette disease. *Theor Appl Genet* 109: 1426-1433
- A32. Lafitte HR, Price A, **Courtois B** (2004) Yield response to water deficit in an upland rice mapping population: associations among traits and genetic markers. *Theor Appl Genet* 109:1237-1246
- A31. Pugh T, Fouet O, Risterucci AM, Brotier P, Abdoulaze M, Deletrez C, **Courtois B**, Clément D, Larmande P, N'Goran JAK, Lanaud C (2004) A new cacao linkage map based on co-dominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theor Appl Genet* 108:1151-1161
- A30. Ruiz M, Rouard M, Raboin LM, Lartaud M, Lagoda P, **Courtois B** (2004) TropGENE-DB, a multi tropical crop information system. *Nucleic Acid Research* 32:364-367
- A29. Wu JL, Sinha PK, Variar M, Zheng KL, Leach JE, **Courtois B**, Leung H (2004) Association between molecular markers and blast resistance in an advanced backcross population of rice. *Theor Appl Genet* 108:1024-1032
- A28. **Courtois B**, Shen L, Petalcorin W, Carandang S, Mauleon R, Li Z (2003) Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 x Co39. *Euphytica* 134 (3): 335-345

- A27. Robin S, Pathan MS, **Courtois B**, Lafitte R, Carandang S, Lanceras S, Amante A, Nguyen HT, Li Z (2003) Mapping osmotic adjustment in an advanced back-cross inbred population of rice. *Theor Appl Genet* 107(7):1288-1296
- A26. Hittalmani S, Huang N, **Courtois B**, Venuprasad R, Shashidhar HE, Zhuang JY, Zheng KL, Liu GF, Wang GC, Sidhu JS, Srivantaneeyakul S, Singh VP, Bagali PG, Prasanna HC, McLaren G, Khush GS (2003) Identification of QTL for growth- and grain yield-related traits in rice across nine locations of Asia. *Theor App Genet* 107 (4): 679 - 690
- A25. Kondo M, Pablico PP, Aragonés DV, Agbisit R, Abe J, Morita S, **Courtois B** (2003) Genotypic and environmental variations in root morphology in rice genotypes under upland field conditions. *Plant and Soil*, 255(1): 189-200
- A24. Lacape J-M, Nguyen TB, Thibivilliers S, Bojinov B, **Courtois B**, Cantrell RG, Burr B, Hau B (2003) A combined RFLP-SSR-AFLP map of tetraploid cotton based on a *Gossypium hirsutum* x *Gossypium barbadense* backcross population. *Genome* 46:612-626
- A23. Li Z, Yu SB, Huang N, **Courtois B**, Hittalmani S, McLaren G, Khush GS, Shashidhar HE, Zhuang JY, Zheng LK, Liu GF, Wang GC, Singh VP, Sidhu JS, Srivantaneeyakul S. (2003) QTL x environment interactions in rice: I. Plant height and heading date. *Theor Appl Genet* 108:141-153
- A22. Lafitte HR, **Courtois B**, Arraudeau M (2002) Genetic improvement of rice in aerobic systems: progress from yield to genes. *Field Crop research* 75:171-190
- A21. Lafitte HR, **Courtois B** (2002) Interpreting cultivar x environment interactions for yield in upland rice: assigning value to drought-adaptive trait. *Crop Science* 42:1409-1420
- A20. Olofsdotter M, Bach-Jensen LB, **Courtois B** (2002) Improving crop competitive ability using allelopathy: an example from rice. *Plant Breeding* 121:1-9
- A19. Price A, Townend J, Jones MP, Audebert A, **Courtois B** (2002) Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice grown in the Philippines and West Africa. *Plant Molecular Biology* 48:683-695
- A18. Bach-Jensen L, **Courtois B**, Shen L, Li Z, Olofsdotter M, Mauleon RP (2001) Locating genes controlling allelopathic effect against *Echinochloa crus-galli* in upland rice. *Agronomy Journal* 93:21-26
- A17. **Courtois B**, Bartholome B, Chaudhary D, McLaren G, Misra CH, Mandal NP, Pandey S, Paris T, Piggitt C, Prasad K, Roy AT, Sahu RK, Sahu VN, Sarkarung S, Sharma SK, Singh A, Singh HN, Singh ON, Singh NK, Singh RK, Singh RK, Singh S, Sinha PK, Sisodia BVS, Takhur R (2001) Comparing farmers and breeders rankings in varietal selection for low-input environments: a case study of rainfed rice in eastern India. *Euphytica* 122:537-550
- A16. Shen L, **Courtois B**, McNally KL, Robin S, Li Z (2001) Evaluation of near-isogenic lines introgressed with QTLs for root depth through marker-aided selection. *Theor Appl Genet*, 103 (1):75-83
- A15. **Courtois B**, McLaren G, Sinha PK, Prasad K, Yadav R, Shen L (2000) Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice. *Molecular Breeding* 6:56-66
- A14. Zheng H, Babu RC, Pathan MS, Ali ML, Huang N, **Courtois B**, Nguyen HT (2000) Quantitative trait loci for root penetration ability and root thickness in rice: comparison of genetic backgrounds. *Genome* 43: 53-61
- A13. Price A, **Courtois B** (1999) Mapping QTLs associated with drought resistance in rice: progress, problems and prospects. *Plant Growth Regulation* 29: 123-133
- A12. Kirk GJD, George T, **Courtois B**, Senadhira D (1998) Opportunities to improve phosphorus efficiency and soil fertility in rainfed lowland and upland rice ecosystems. *Field Crop Research* 56: 73-92
- A11. **Courtois B**, Hong NH, Hien PV, Huong VTT, Carandang C, Xuan VT (1997) Diversité des variétés traditionnelles de riz pluvial du Vietnam et perspectives offertes par les

- variétés améliorées. Cahiers Agriculture, 6:481-485; Agriculture et développement 15:163-167.
- A10. Yadav R, **Courtois B**, Huang N, McLaren G (1997) Mapping genes controlling root morphology and root distribution in a doubled-haploid population of rice. *Theor Appl Genet* 94:619-632
- A09. Huang N, **Courtois B**, Khush GS, Lin H, Wang G, Wu P, Zheng K (1996) Association of quantitative traits loci for plant height with major dwarfism genes in rice. *Heredity* 77:130-137
- A08. Trebuil G, **Courtois B**, Herrera W (1996) Assessment of upland rice rooting depth: does the herbicide injection technique work? *J. Agronomy and Crop Science* 177:85-93
- A07. **Courtois B** (1993) Comparison of single seed descent and anther culture derived lines of three single crosses of rice. *Theor Appl Genet* 85:625-631
- A06. Guiderdoni E, **Courtois B**, Boissot N, Avenant V (1992) Le point sur les biotechnologies du riz à l'IRAT. *L'Agronomie tropicale* 46(1):51-58
- A05. Beaumont V, **Courtois B** (1990) Comportement en androgenèse d'anthères de riz provenant de plantes traitées avec un agent chimique d'hybridation. *L'Agronomie tropicale* 45(2):95-100
- A04. **Courtois B**, Taillebois J (1990) Comportement en androgenèse de lignées de riz porteuses d'une stérilité mâle d'origine géno-cytoplasmique. *L'Agronomie tropicale* 45(2):101-105
- A03. **Courtois B** (1989) La culture *in vitro*, un outil pour l'amélioration du riz. *L'Agronomie tropicale* 43(4):307-316
- A02. Guiderdoni E, Glaszmann J-C, **Courtois B** (1989) Segregation of 12 isozyme genes among doubled-haploid lines derived from a japonica x indica cross of rice. *Euphytica* 42:45-53
- A01. Guiderdoni E, **Courtois B**, Dechanet R, Feldmann P (1986) La production de lignées haploïdes doublées de riz par culture d'anthères *in vitro*. *L'Agronomie tropicale* 41(3-4):250-257

Articles en préparation (manuscrit disponible) ou soumis

- A58p. Ballini E, Morel J-B, Price A, **Courtois B**, Notteghem J-L, Tharreau D. A review of rice blast resistance genes and QTLs (en préparation)
- A57p. Botwright TL, **Courtois B**, Lafitte HR. Contrasting drought responses in closely related backcross lines of upland rice (en préparation)
- A56p. **Courtois B**, Clément G, Calatayud, Luce C, Dupuis C, Brunel D, Deu M, Glaszmann JC. Associations between SNP polymorphism in *Hd1*, *Hd3*, *Hd6* and *PhyB* and heading date in a set of temperate japonica rice varieties (en préparation)
- A55p. Billotte N, Jourjon MF, Marseillac N, Berger A, Flori A, Asmady H, Adon B, Singh R, Nouy B, Durand-Gasselien T, **Courtois B**, Cheah SC, Rohde W, Ritter E, Charrier A, Mangin B. Multi-parent linkage mapping and molecular detection of QTL in oil palm (en préparation).
- A54p. de Alencar Figueiredo LF, Calatayud C, Rami JF, Sine S, Chantereau J, Mestres C, Glaszmann JC, Deu M, **Courtois B**. Associations studies between polymorphism in candidate genes and grain quality traits in a core collection of cultivated sorghum (en préparation).
- A53p. de Alencar Figueiredo LF, Fliedel G, Fallet V, Rami JF, Davrieux F, Chantereau J, Glaszmann JC, Deu M, **Courtois B**, Mestres C. Relationships between sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) grain quality traits and its genetic structure based on molecular markers (en préparation)

- A52p. Ahmadi N, **Courtois B**, Tranchant C, Lorieux M, McCouch S, This D, Fonceka D, Frouin J, Luce C, Filloux D, Billot C, Grivet L, Garsmeur O, Glaszman JC, Ghesquière A. New resources and integrated maps for IR64 x Azucena, a reference population in rice (en préparation)
- A51p. Lafitte HR, **Courtois B**. Random introgression of japonica alleles into an upland aus rice variety: drought tolerance and QTL identification (en préparation)
- A50s. Feltus FA, Ganesh SK, Lanceras JC, Lanceras MRE, Pathan MS, Sawkins MC, Ali ML, Bai G, Bänziger M, Bencivenni C, Blum A, Chamarek V, Chezian P, Crossa J, Dwivedhi D, Fu BY, Hittalmani S, Jeyaprakash P, JiangYZ, Jongdee B, Kamoshita A, Khush GS, Lafitte RH, Mackill DJ, Messmer R, Nguyen BD, Palchamy A, Pantuwan G, Robin S, Sadasivam S, Saranga Y, Sarkarung S, Saxena NP, Sekhar AC, Tripathy JN, Vargas M, Venuprasad R, Verulkar SB, Vijayakumar CHM, Wade LJ, Xu JL, Zai HQ, Zhao MF, Zheng TQ, Zhu LH, Babu RC, **Courtois B**, Nguyen HT, Reddy AR, Shashidhar HE, Toojinda T, Li ZK, O'Toole JC, Ribaut JM, Paterson AH. Drought resilience in rice and maize is under independent genetic control. Soumis à Science
- A49s. Larmande P, Gay C, Lorieux M, Périn C, Bouniol M, Droc G, Sallaud C, Perez P, Barnola I, Bidere-Petit C, Martin J, Morel J-B, Johnson AAT, Bourgis F, Ghesquière A, Ruiz M, **Courtois B**, Guiderdoni E. Oryza Tag Line, a database for the phenotypic characterization of the Génoplatte rice insertion line library. Soumis à Nucleic Acid Research
- A48s. de Alencar Figueiredo LF, Calatayud C, Dupuis C, Billot C, Rami JF, Brunel D, Perrier X, **Courtois B**, Deu M, Glaszmann JC. Phylogeographic analysis of gene sequence variation in cultivated sorghum highlights crop neo-diversity selected in the course of domestication. Soumis à PLoS Genetics
- A47s. Letort V, Mahe P, Cournède PH, de Reffye P, **Courtois B**. Quantitative genetics and functional-structural plant growth models: simulation of quantitative trait loci detection for model parameters and application to potential yield optimization. Soumis à Annals of Botany

Ouvrages ou chapitres d'ouvrages

- O19. **Courtois B**, Ahmadi N, Perin C, Luquet D, Guiderdoni E (2007) Rice root system: from QTLs to genes to alleles. In: Drought resistant rice for increased rainfed production and poverty alleviation, [Eds Seraj R and Hardy B], IRRI, Los Baños, Philippines (sous presse).
- O18. **Courtois B**, Arrau deau M, Lafitte R (2006) Genetic improvement of upland rice for Asia. In: France-CGIAR: Delivering results for agricultural development. CGIAR, Washington, p39-40.
- O17. **Courtois B**, Filloux D, Ahmadi N, Noyer JL, Billot C, Guimaraes EP (2004) Using molecular markers in rice population improvement through recurrent selection. In: Population improvement: a way of exploiting the rice genetic resources of Latin America. [Ed Guimaraes EP], CIAT, Cali Colombia, p. 53-74.
- O16. **Courtois B**, Lafitte HR (2003) Using marker-aided selection for a specific drought-tolerance trait. In: Manual: Breeding rice for drought tolerance. [Eds Fisher K, Lafitte R, Fukai S, Atlin G, Hardy B], IRRI, p. 84-89.
- O15. Pathan MS, Subudhi PK, **Courtois B**, Nguyen HT (2003) Molecular dissection of abiotic stress tolerance in sorghum and rice: a case study. In: Physiology and Biotechnology Integration for Plant Breeding. [Eds Nguyen HT, Blum A], Marcel Dekker, Inc. New York, NY.
- O14. **Courtois B** (2002) Paysans et chercheurs: un partenariat pour améliorer les riz inondés et pluviaux. Trois années du projet IACR-IRRI-CIRAD de sélection participative

- du riz en Inde de l'Est. Mémento de l'Agronome, Montpellier, CIRAD-GRET-MAE.
- O13. Lafitte RH, **Courtois B**, Atlin GN (2002) The International Rice Research Institute's experience in field screening for drought tolerance and implications for breeding. In: Field screening for drought tolerance in crops plants with emphasis on rice. [Eds Saxena NP, O'Toole JC], ICRISAT, Patancheru, India, Rockefeller Foundation, New-York, USA. p25-40
- O12. **Courtois B**, Singh RK, Pandey S, Piggins C, Paris T, Sarkarung S, Singh VP, McLaren G, Baghel SS, Sahu RK, Sahu VN, Sharma SK, Roy JK, Chaudhary D, Prasad K, Singh RK, Sinha PK, Mandal NP (2000) Breeding better rainfed rice varieties through farmer participation: some early lessons from Eastern India. In: Assessing the impact of participatory research and gender analysis, [Eds Lilja N, Ashby JA, Sperling L], CIAT, Cali, Colombia, p. 208-222.
- O11. Lafitte RH, **Courtois B** (1999) Genetic variation in performance under reproductive-stage water deficit in a doubled-haploid rice population in upland fields. In: Molecular Approaches for the genetic improvement of cereals for stable production in water-limited environments, [Ed Ribaut JM], CIMMYT, Mexico, p97-102
- O10. Piggins C, **Courtois B**, George T, Pandey S, Lafitte R, Kirk G, Kondo M, Leung H, Nelson, Olofsdotter M, Prot J-C, Reversat G, Roder W, Schmit V, Singh VP, Trebuil G, Zeigler R, Fahrney K, Castella J-C (1998) The IRRI upland rice research program. IRRI Discussion Paper Series 25, IRRI, Los Baños, Philippines, 25 p.
- O09. **Courtois B**, Lafitte RH (1999) Rice improvement for the drought-prone upland environments of Asia. In: Genetic improvement of rice for water-limited environments, [Eds O'Toole J, Ito O, Hardy B], IRRI, Los Baños, Philippines, p. 35-56.
- O08. Glazmann J-C, Grivet L, **Courtois B**, Noyer J-L, Luce C, Jacquot M, Albar L, Ghesquière A, Second G (1999) Le riz asiatique. In: Diversité génétique des plantes tropicales cultivées. [Eds Hamon P, Seguin M, Perrier X, Glazmann J-C], CIRAD, Montpellier, France, p. 327-350.
- O07. **Courtois B**, Olofsdotter M (1997) Breeding upland rice for allelopathic potential. In: Allelopathy in rice, [Ed Olofsdotter M], IRRI, Los Baños, Philippines, p57-68.
- O06. **Courtois B**, Roumen E, Nelson R (1997) Building a gene pool to improve partial resistance to blast of upland rice through recurrent selection. In: Selection Recurrente en Arroz [Ed Guimaraes EP], Cali, Colombia, p.189-202.
- O05. **Courtois B**, McLaren CG, Ynalvez M, Hernandez J, Endaya V, Du M-J, Du A, Hondrade E, Chatel M, Guimaraes E, Jones M, Semon M, Darwis S, Syarif AA, Chaitep W, Moolsri S, Prasad K, Sinha PK (1996) Old and new tools to analyze genotype x environment interactions: Impact on upland rice breeding. In: Upland Rice Research in Partnership [Eds Piggins C, Courtois B, Schmit V], IRRI, Los Baños, Philippines, IRRI Discussion paper Series 16: 177-195.
- O04. **Courtois B**, Guiderdoni E (1994) Androgenèse *in vitro*: application à l'amélioration du riz. In: La culture *in vitro* des plantes tropicales. {[Ed Teisson C], Cirad, Collection Repères, p.51-55.
- O03. Guiderdoni E, **Courtois B**, Boissot N, Valdez M (1990) Rice somatic tissue and anther culture: current status in France. In: Agriculture and Forestry, 14 [Ed Bajaj], Springer-Verlag, Berlin, Germany, p. 591-618.
- O02. **Courtois B** (1988) Les systèmes de culture du riz pluvial. Mémoires et Travaux de l'IRAT 16, 96 p.
- O01. Jacquot M, **Courtois B** (1983) Le riz pluvial. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, 134 p.

Mémoires

- M02. **Courtois B** (1991) Variabilité des descendance de trois croisements simples fixés par haplo-diploidisation et par filiation unipare chez le riz. Thèse de Docteur-Ingénieur, Amélioration des Plantes, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 142 p
- M01. **Courtois B** (1978) Radiosensibilité aux rayons gamma de semences d'amandier et d'abricotier. DAA, ENSAM Montpellier, 80 p

Communications invitées à des congrès internationaux

- CI3. **Courtois B**, Lafitte HR, Robin S, Shen L, Pathan MS, Nguyen H (2003) Molecular breeding of rice for drought tolerance. In Proc: First International Rice Congress, 16-20 September 2002, Beijing, China
- CI2. **Courtois B**, Lafitte HR, McNally K, Pathan MS, Robin S, Shen L, Nguyen HT, Li Z (2002). Marker aided selection of QTLs for drought tolerance in rice. Plant, Animal and Microbe Genome X, San Diego, USA, 12-16 January 2002
- CI1. **Courtois B**, Lafitte R, Robin S, Pathan MS (2002) Molecular markers for drought tolerance in rice: progress and prospects. RiceEU conference, Torino, Italy, 6-8 June 2002

THEMATIQUES SCIENTIFIQUES ABORDEES

Entre 1985 et 2007, j'ai travaillé pour le Cirad comme sélectionneur et généticienne. Cette période correspond à trois phases de travail dans des lieux, des cadres institutionnels et avec des objectifs différents, mais centrées autour d'un thème de recherche principal qui concerne l'amélioration génétique du riz.

Le riz est la céréale majeure pour l'alimentation humaine ce qui constitue la meilleure des justifications pour un investissement prolongé sur cette espèce. Cette période de vingt ans a, par ailleurs, connu de nombreuses avancées technologiques. Elle a été caractérisée notamment par l'essor des outils biotechnologiques, ceux de la culture *in vitro* puis de la biologie moléculaire, le choix du riz comme plante modèle pour les monocotylédones, le clonage de gènes majeurs puis de QTLs, et le séquençage complet du génome, éléments qui ont contribué à élargir la palette d'outils disponibles pour l'amélioration génétique du riz et à maintenir mon intérêt pour ce sujet.

Les premiers thèmes de recherche sur lesquels j'ai travaillé en Guadeloupe ont concerné d'une part l'amélioration méthodologique de la production de lignées haploïdes doublées de riz par culture d'anthère *in vitro* (A01, A03, A04, A05, A06, O03), et d'autre part l'évaluation de l'étendue de la variabilité phénotypique obtenue par ce type de méthode pour mesurer l'intérêt de l'outil pour les programmes de sélection du riz (A07). Ce deuxième aspect a fait l'objet de ma thèse de troisième de cycle (M02). La production de grandes populations de lignées HD dans le cadre de ce programme nous a permis d'analyser les phénomènes de sélection gamétique en faisant appel à des marqueurs isozymiques (A02). Ces recherches ont montré que l'androgenèse constituait bien un outil opérationnel et efficace de fixation rapide des lignées chez le riz, avec une absence de biais systématique en comparaison des méthodes classiques par autofécondations successives, et justifiaient le choix de la génération de travail. Les lignées obtenues étaient stables, homogènes et, pour peu que le croisement de départ ait été bien choisi, intéressantes ce que démontre l'inscription de certaines d'entre elles aux catalogues français et ivoirien. Les populations HD de grande taille que j'avais produites pour ma thèse ont ouvert la voie aux toutes premières analyses de déterminisme des caractères par marquage moléculaire utilisant ce type de matériel chez le riz (McCouch et al, 1989), aspect que j'ai développé par la suite.

Le thème de recherche que j'ai ensuite abordé aux Philippines dans le cadre du programme d'amélioration génétique du riz pluvial dont j'avais la charge a concerné le déterminisme génétique de la résistance à la sécheresse chez le riz approché par des approches de marquage moléculaire. Cet aspect sera celui développé dans la synthèse de mes travaux de recherche.

Mon retour en France s'est traduit par un élargissement de mon champ d'activité tant sur le plan thématique que sur le plan des espèces travaillées. J'ai consacré ces dernières années au montage et à l'animation scientifique d'une équipe de bioinformatique désormais bien positionnée au niveau national et international, à l'appui méthodologique à l'analyse de données génétiques sur de nombreuses plantes tropicales autres que le riz (cf. chapitre II: Encadrement et co-encadrement), ainsi qu'à la valorisation sous forme de publications de mes travaux précédents. Je compte transférer la responsabilité de l'équipe de bioinformatique à quelqu'un d'autre à compter de mi-2007 et consacrer une plus grande partie de mon temps à la recherche sur le riz. Le thème de recherche sur lequel je travaille actuellement et sur lequel porte mon projet de recherche concerne l'identification des gènes qui sous-tendent les QTLs de résistance à la sécheresse détectés précédemment, par des approches de génétique d'association et de clonage positionnel, la détermination des allèles les plus intéressants à ces gènes pour un contexte agronomique donné et, à plus long terme, la combinaison de ces allèles dans le cadre de projets de sélection assistée par marqueurs.

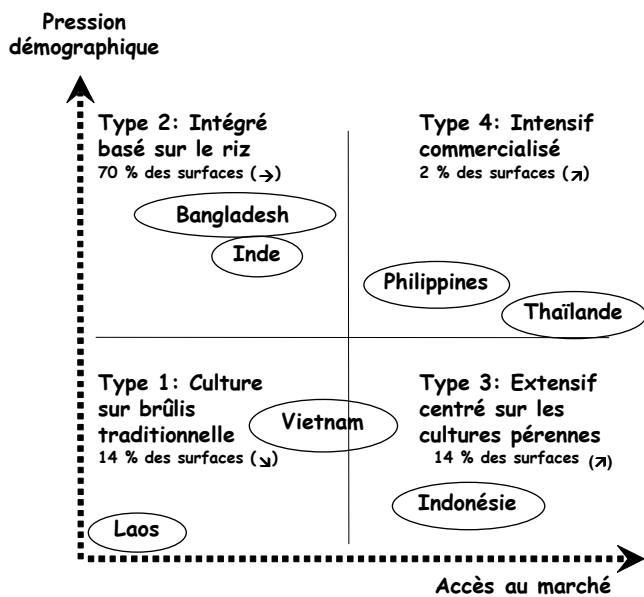


Figure 1 : Caractérisation des systèmes de production du riz pluvial en fonction de la pression démographique et de l'accès au marché (Extrait de O09)

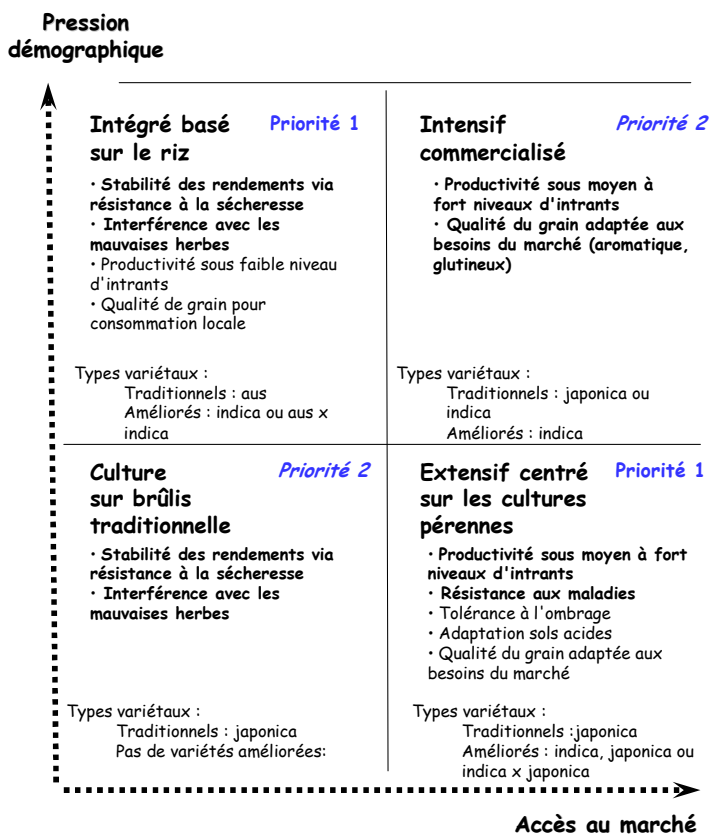
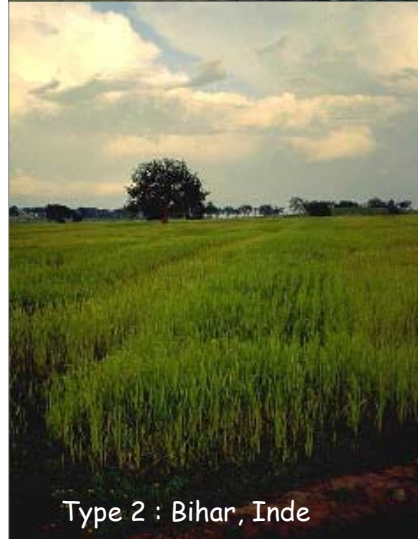


Figure 2 : Priorités du programme de sélection pour chaque système de production (Extrait de O09)

Synthèse des résultats scientifiques :

Amélioration de la résistance à la sécheresse du riz pluvial

Avant-propos

Ce thème de recherche sur l'amélioration génétique de la résistance à la sécheresse du riz a été construit à partir de l'analyse d'une situation agronomique réelle, celle qui prévaut pour le riz pluvial en Asie, et de sa traduction en objectifs de sélection dans le cadre d'un programme d'amélioration génétique.

Les écosystèmes rizicoles sont définis sur la base de leur hydrologie. Le terme "pluvial" désigne une riziculture dont l'alimentation hydrique dépend uniquement de la pluviométrie. L'irrigation n'est généralement pas une option et la voie génétique est le plus souvent choisie pour limiter les effets des déficits hydriques. La résistance à la sécheresse est un caractère complexe qu'il est indispensable de concevoir en liaison avec les environnements agro-économiques cibles pour assurer une bonne adéquation des produits de ces recherches aux besoins (Passioura, 2007). Il est donc nécessaire de présenter ces éléments dans leur complexité pour une bonne compréhension de la démarche scientifique adoptée et des recherches qui en ont découlé.

Le riz est une espèce originale par son poids dans les modes de vie et les paysages, l'étendue de sa gamme d'adaptations agro-écologiques et l'organisation de sa diversité génétique. De développer ces éléments nous entraînerait trop loin. Néanmoins pour les personnes peu familières avec cette espèce et son histoire, une présentation du riz, des écosystèmes rizicoles, de la diversité génétique de la principale espèce cultivée *Oryza sativa* et l'histoire résumée de son amélioration génétique récente peut être trouvée sur le site <http://tropgenedb.cirad.fr/rice/AmeliorationGenetiqueRiz.pdf> (Courtois, 2007).

Les conditions agro-économiques de la production de riz pluvial en Asie et les objectifs de sélection qui en découlent

Le riz pluvial est une culture importante en Asie. Il occupe environ 9 millions d'hectares. Les conditions de production y sont extrêmement diverses allant de la culture sur brûlis à la culture intensive. L'étendue géographique de la zone de travail et la complexité du milieu pluvial rendent donc nécessaire la décomposition de la zone de travail en grands environnements cibles. Une bonne compréhension des interactions Génotype x Environnement (GxE) permet, en effet, de convertir une partie des interactions en effets répétables et contrôlables par une décomposition plus fine des zones cibles (Cooper et al, 1996).

L'analyse des systèmes de production constitue un point d'entrée pour comprendre la culture du riz pluvial en Asie (Figure 1). Les deux forces structurantes déterminant l'évolution des systèmes de production sont la densité de population et l'accès au marché (Pandey, 1996; O10). L'augmentation de la pression démographique par accroissement naturel ou migration pousse les systèmes de production à devenir plus intensifs et sédentaires. L'amélioration de l'accès aux marchés fait passer les systèmes de production d'une orientation de subsistance à une orientation plus commerciale, alors basée sur des cultures autres que le riz pluvial. Sur la base de ces deux facteurs, les systèmes de production sont classés en quatre groupes : culture

Les systèmes de culture du riz pluvial en Asie

a) La culture itinérante sur défriche-brûlis

Ce système traditionnel est durable dans les situations de faible pression de population. C'est un système de subsistance reposant sur une longue jachère pour rétablir la fertilité du sol. En cas de pression foncière, ce système excède sa capacité de portage et commence à avoir un effet négatif sur les environnements (érosion du bassin versant et déforestation). L'évolution se fait vers des formes dégradées du système à jachère trop courte ou vers la sédentarisation de l'agriculture. Cette transition a déjà eu lieu dans plusieurs pays, soit naturellement (Thaïlande), soit sous la pression des autorités (Laos), associée avec une réduction forte de l'importance du riz pluvial.

b) Système intégré à base de riz

Ce système se rencontre dans les zones à forte densité de population et accès limités au marché (Inde de l'Est). Le riz pluvial est alors cultivé en rotation avec une gamme de cultures de saison sèche (blé, légumes à cycle court, diverses légumineuses à graine) ou des jachères, en fonction de l'humidité résiduelle du sol à la fin de la saison des pluies. L'intégration avec l'élevage est généralement forte, les résidus de culture étant utilisés comme fourrage et les déjections animales comme source de fertilisation organique en l'absence de fertilisation minérale. Il y a généralement un continuum de la riziculture strictement pluviale à la riziculture inondée le long de la toposéquence et les paysans possèdent fréquemment des champs dans toute la toposéquence. Dans ce cas, c'est le riz inondé, potentiellement plus productif, qui a priorité, le riz pluvial ne venant qu'en second.

c) Association avec des cultures pérennes

Des systèmes de production basés sur les plantes pérennes mais utilisant le riz pluvial comme culture intercalaire se développent en Indonésie, notamment dans les zones de transmigration, et au Vietnam avec l'appui des gouvernements. Le riz pluvial est cultivé entre les rangs d'arbres (hévéa, palmier à huile, cocotier, teck à rotation lente, ou acacia et anacardier à rotation plus rapide) les 3 à 4 années suivant leur plantation puis disparaît quand l'ombre devient trop importante. Le riz profite des intrants apportés à la plantation et la plantation bénéficie du désherbage pratiqué sur le riz.

d) Systèmes intensifs commerciaux

Ces systèmes représentent une faible part des surfaces mais leur importance devrait s'accroître avec la disparition progressive de l'agriculture de subsistance (Pingali, 1997). Dans les systèmes intensifs, la part du riz pluvial diminue au profit de cultures plus rentables. Le riz pluvial se concentre dans les zones qui lui sont le plus favorables et son rendement augmente généralement du fait d'un recours plus fréquent aux intrants. Le fait que le riz pluvial se maintienne ou non dans ces systèmes dépend du prix relatif du riz par rapport aux autres cultures. Des caractéristiques spécifiques de grain (péricarpe violet, arôme) ou de système de culture (culture sans pesticide donc perçue comme "biologique") donnent parfois localement un avantage très net au riz pluvial par rapport au riz irrigué en terme de prix de marché.

e) Systèmes intensifs avec irrigation de complément

Un nouveau système est apparu en Asie de l'Est dans les années 2000. Il s'agit de culture intensive sur des sols en conditions aérobies avec une irrigation de complément, sur le modèle de ce qui existe déjà au Japon ou au Brésil. Dans les zones irriguées, le coût de l'eau a beaucoup augmenté. De plus, la compétition pour l'eau due aux activités non-agricoles conduit à un déclin des disponibilités en eau pour l'agriculture. Avec des variétés appropriées (à développer), ce système, économe en eau, peut remplacer la riziculture irriguée sur les sols les plus légers, tout en limitant la production de méthane et de gaz à effet de serre. La Chine et la Corée du Nord ont montré un intérêt certain pour ce système et l'IRRI y consacre désormais une part importante de ses activités de recherche.

(Source : O09)

itinérante, système intégré à base de riz, association avec des cultures pérennes, et systèmes intensifs commerciaux (voir encadré).

Une autre manière de structurer la diversité des systèmes pluviaux d'Asie consiste à s'appuyer sur un zonage agro-écologique. Chaque zone agro-écologique peut être caractérisée par un mode dominant d'exploitation de l'environnement, cette association n'étant toutefois pas absolue du fait des différenciations socio-économiques entre agriculteurs. Ceci conduit à distinguer ainsi :

- Les zones sub-humides continentales d'Asie du sud-est où la culture itinérante sur brûlis est le mode d'exploitation dominant.
- Les plateaux secs d'Inde de l'Est et du Bangladesh sur lesquels le riz pluvial est cultivé en système intégré permanent.
- Les zones équatoriales humides d'Indonésie, du sud Vietnam et du sud des Philippines où des systèmes associant le riz aux plantes pérennes sont rencontrés dans les zones peu favorables et des systèmes purement commerciaux dans les zones plus favorables.

Le tableau 1 résume les caractéristiques agro-écologiques principales de ces trois zones de production et précise les risques de sécheresse qui y sont associés (O09).

Ces analyses permettent de traduire les caractéristiques des systèmes de production en terme d'objectifs de sélection (Figure 2). Sur la base des surfaces couvertes, des tendances dans l'évolution des surfaces et du degré de soutien des gouvernements locaux à ce type de production, deux cibles principales se dégagent qui sont le système intégré à base de riz et l'association avec des cultures pérennes (O10). La résistance à la sécheresse, l'interférence avec les mauvaises herbes et la résistance à la pyriculariose combinées avec le niveau de rendement et la qualité de grain requise pour chaque système y constituent les priorités de sélection.

L'importance de la résistance à la sécheresse pour ces systèmes de production nous a conduit à développer cette thématique.

Sur quels caractères de résistance à la sécheresse travailler?

Un rendement stable des variétés en conditions variées de stress hydrique est l'objectif ultime du sélectionneur mais le matériel doit également faire preuve de bonnes performances en conditions favorables. Vue la difficulté d'évaluer correctement le rendement sous stress du fait de la nature imprévisible des sécheresses, nous avons choisi de travailler sur des caractères morphologiques et physiologiques supposés bien corrélés avec le rendement sous stress dans des conditions données et, en théorie, plus faciles à mesurer que celui-ci et à meilleure héritabilité au sens large.

De très nombreux caractères dits "secondaires" contribuent à maintenir le potentiel hydrique de la plante (voir Ludlow et Muchow (1990), Fukai et Cooper (1995), et A13 pour une revue). Ces caractères sont généralement regroupés dans de grandes classes de stratégie, en esquive, évitement, tolérance vraie et récupération (voir encadré).

Chez le riz, le choix d'un caractère secondaire sur lequel faire porter la sélection dépend du régime hydrologique (pluvial, inondé ou irrigué) ainsi que de l'environnement dans la zone cible. Dans les zones identifiées comme cibles, les profils de sécheresse diffèrent en période d'occurrence, durée, intensité, et niveau de risque (Tableau 1) mais tous partagent le risque de courtes périodes de sécheresse d'une durée de 1 à 2 semaines se produisant aléatoirement.

Nous avons décidé de nous focaliser sur des stratégies d'évitement présentant a priori une valeur adaptative pour plusieurs modalités de sécheresse et compatibles avec un maintien du rendement sous stress. Notre choix s'est porté sur un système racinaire épais et profond capable d'aller chercher de l'eau en profondeur et de faire face à la demande évaporative, sous

Tableau 1: Caractéristiques agro-écologiques des trois principales zones de culture du riz pluvial

Zone agro-écologique	Plateau sec	Colline sub-humide	Equatorial humide
Zone géographique	Inde de l'Est (Assam, Bihar, Orissa, Madhya Pradesh, Uttar Pradesh, Ouest-Bengale), Bangladesh	NE Inde, Nord Myanmar, Laos, Nord Vietnam, Nord Thaïlande, Sud Chine (Yunnan), Indonésie	Indonésie (Sumatra, Kalimantan), Malaisie, Sud Vietnam (Hauts Plateaux), Sud Philippines (Mindanao)
Latitude	30 à 20°N	30 à 15°N	15°N à 5°S
Longitude	80 à 95°E	90 à 110°E	95 à 125°E
Altitude (m)	100-150	300-2000	300-1000
Pentes	Faibles	Raides ; jusqu'à 60%	Faibles
Pluviométrie (mm)	800-1400	1200-3000	>2500
Longueur de la saison des pluies (mois)	3	4-5	>5
Profil de pluviométrie	Monomodal	Tendance à la bimodalité	Monomodal
Risque de sécheresse	Elevé	Modéré	Modéré à faible
Type de sécheresse	Intermittente + terminale	Intermittente	Intermittente
Intensité de la sécheresse (semaines)	4-5	2-3	1-2
Intensité lumineuse durant la saison de culture	Modérée	Modérée	Faible
Température durant la saison de culture	Non limitante	Problèmes de froid au dessus de 600 m	Non limitante
pH du sol	5.5-6.5	5.0-6.0	3.5-5.0, parfois >6.0
Fertilité du sol	Très mauvaise	Moyenne, localement bonne	Mauvaise, localement bonne
Potentiel de productivité	Limité	Bon mais risques importants d'érosion	Limité, localement très bon

(Source: O09)

Les grandes classes de mécanismes de résistance à la sécheresse

a) Esquive :

Cette stratégie regroupe les mécanismes qui permettent de caler les stades les plus sensibles du cycle de la plante durant les périodes de disponibilité en eau maximum.

Exemples : Phénologie appropriée; photosensibilité.

b) Evitement :

Cette stratégie regroupe les mécanismes qui permettent à la plante d'éviter une baisse de son potentiel hydrique et de maintenir une bonne turgescence alors que le sol subit une baisse de son potentiel hydrique.

Exemples: Profondeur racinaire qui permet à la plante d'aller chercher de l'eau en profondeur ; Enroulement foliaire qui limite la surface exposée aux radiations et réduit la demande évaporative ; Fermeture stomatique qui limite les pertes en eau (mais qui diminue en même temps les échanges gazeux et ralentit ou arrête la croissance) ; Ajustement osmotique qui permet à la plante de maintenir sa turgescence par un mécanisme actif de transfert de solutés dans la cellule.

c) Tolérance vraie :

Cette stratégie regroupe les mécanismes qui permettent à la plante d'éviter des dégâts cellulaires trop importants alors qu'elle subit une baisse de son potentiel hydrique.

Exemple: Tolérance à la déshydratation

d) Récupération :

Cette stratégie regroupe les mécanismes qui permettent à une plante qui a subi une baisse de son potentiel hydrique de reprendre rapidement une croissance et un métabolisme normaux.

Exemple: Dessiccation foliaire limitée.

(Source : A15)

réserve bien évidemment de présence d'eau dans le profil. Dans un second temps, nous avons également retenu l'ajustement osmotique dont l'intérêt est moins général. L'ajustement osmotique, qui désigne la capacité des cellules végétales à accumuler activement des solutés dans une situation de déficit hydrique de manière à maintenir une bonne turgescence, est faible dans les variétés pluviales japonica (Lilley et Ludlow, 1996).

Toutefois, pour la plupart des caractères secondaires à l'exception de la profondeur racinaire, les preuves d'un lien avec les performances sous stress dans des conditions données sont rares et pas toujours convaincantes. Une des raisons en est que, chez le riz, la plupart des variétés diffèrent simultanément pour plusieurs caractères secondaires et par leur potentiel de rendement, et que l'effet individuel de chaque caractère est difficile à évaluer sans matériel approprié (comme par exemple des lignées quasi isogéniques).

Pour contourner ce problème, nous avons utilisé une approche de décomposition des interactions génotype x environnement affectant le rendement selon un modèle AMMI (Additive Main effect and Multiplicative Interaction), associée à une analyse en composantes principales sur les interactions dont les deux axes principaux ont été corrélés avec les caractères secondaires mesurés. En utilisant un jeu de 45 variétés testées sur le même site mais dans une gamme de 9 environnements rendus différents pour l'alimentation hydrique (de 0.6 à 2t/ha de rendement moyen), nous avons démontré que la durée de cycle, le pourcentage de poids frais de la feuille à saturation hydrique (% d'eau dans les feuilles complètement réhydratées lors de la mesure de la teneur en eau relative des feuilles), la surface foliaire, la pression racinaire et la profondeur racinaire avaient un lien avec le rendement sous stress (A21). En revanche, dans ce même groupe d'environnements, la teneur en eau des feuilles, l'enroulement foliaire, le dessèchement foliaire et la température du couvert végétal, paramètres pourtant couramment utilisés pour évaluer la résistance à la sécheresse, n'étaient que faiblement liés avec le rendement sous stress.

Ces pistes sont intéressantes mais souffrent des limites des approches corrélatives. La démonstration par les physiologistes de leur valeur explicative reste à faire. Les résultats de cette étude nous ont cependant conduits à mesurer cette nouvelle série de caractères secondaires lors d'essais ultérieurs, en complément de la gamme classique qui a fait ses preuves en d'autres circonstances.

Méthodes d'évaluation des caractères racinaires

Pour améliorer un caractère, un sélectionneur doit disposer de méthodes efficaces d'évaluation à grande échelle du caractère, comprendre l'organisation de la variabilité pour ce caractère dans les fonds génétiques travaillés, et avoir une certaine compréhension de son déterminisme génétique.

Nous avons décrit dans divers articles les difficultés pour mesurer la plupart des caractères de résistance à la sécheresse et pour assurer un contrôle correct des conditions d'alimentation hydrique des plantes notamment pour des essais de grande taille en champ (A13; O13).

L'évaluation du système racinaire se heurte au même type de problème. La culture en pot, la culture hydroponique et la culture aéroponique sont les méthodes couramment utilisées en conditions contrôlées. Elles donnent accès à l'ensemble du système racinaire. Toutefois, aucune de ces méthodes n'est parfaite. Ce que les méthodes gagnent en simplicité, elles le perdent généralement en représentativité des conditions réelles.

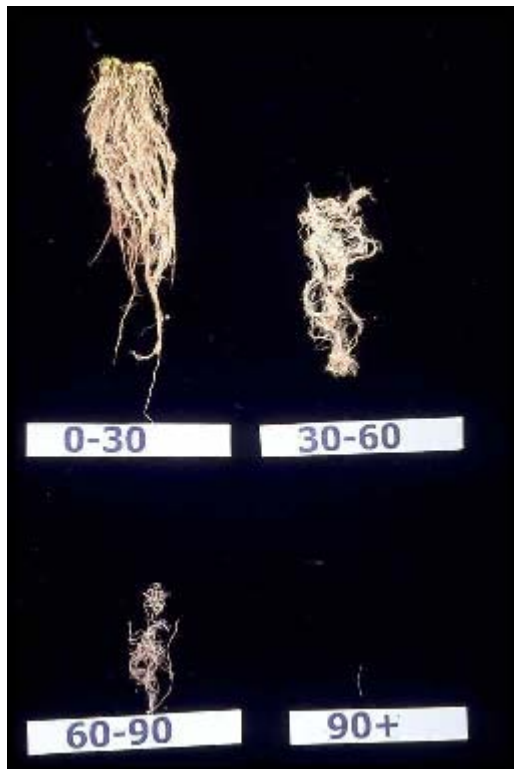
Pour la plupart des essais conduits en serre, nous avons utilisé la culture en pot. L'avantage de cette technique est que c'est celle qui se rapproche le plus des conditions réelles en permettant un contrôle correct des différences de sol (nature, compaction, teneur en eau). Son inconvénient est le temps nécessaire au tri des racines dans chaque horizon. Dans le



1. Essai en tube en serre



2. Séparation substrat/racines



3. Racines récoltées par horizon



4. Echantillonnage en champ à la tarière

Planche photo n°1: Evaluation du système racinaire
(Photos B. Courtois)

système que nous avons utilisé, les plantes poussaient en conditions aérobies dans des sacs en plastique bien drainés remplis de sol et placés dans des tubes en polyvinyle (Planche photo n°1). La taille des tubes (1.0 m de hauteur x 0.2 m de diamètre) avait été choisie pour permettre une bonne expression de la profondeur racinaire. Les plantes étaient arrosées 3 fois par semaine avec une solution nutritive. Les plantes étaient coupées environ 45 jours après semis. Les paramètres mesurés étaient la profondeur maximale atteinte par les racines, l'épaisseur des racines sous le plateau de tallage et la masse de racines dans des segments de 30 cm de la colonne de sol. La masse racinaire, plus facile à mesurer, avait été préférée à la longueur de racines, des essais préalables nous ayant montré que les deux paramètres étaient très fortement corrélés pour une profondeur donnée.

Il nous a paru nécessaire de vérifier au champ les résultats obtenus en conditions plus artificielles. L'échantillonnage avec des tarières est une solution pour avoir accès au système racinaire en champ bien qu'il soit lent et coûteux. La plasticité du système racinaire est bien connue. En conditions de champ, de nombreux facteurs édaphiques (texture, compaction, disponibilité en eau et éléments minéraux, gradients chimiques) ou biologiques (nématodes) peuvent affecter l'expression du potentiel génétique et créer une variabilité non souhaitée. Les travaux conduits à l'IRRI ont effectivement montré que, en champ, l'héritabilité au sens large de la profondeur racinaire était très faible même avec un grand nombre d'échantillons par parcelle (Yadav et al, résultats non publiés).

Du fait de ces problèmes, en collaboration avec un agronome intéressé par l'évaluation du système racinaire en champ paysan pour faire du diagnostic agronomique, nous avons testé une technique indirecte basée sur l'injection d'un herbicide, la métribuzine, en profondeur en utilisant une seringue vétérinaire munie de longues aiguilles. Le temps nécessaire à l'apparition de symptôme de phytotoxicité sur les plantes voisines était considéré comme un moyen d'évaluer approximativement la profondeur atteinte par les racines. Des résultats prometteurs ont été enregistrés en serre mais cette méthode ne s'est montrée ni vraiment fiable ni vraiment pratique en utilisation au champ (A08).

Nous avons donc arrêté là nos tentatives d'évaluer le système racinaire en champ et avons choisi de nous en tenir à la culture en pot en conditions de serre qui apparaissait comme un compromis raisonnable pour des évaluations à moyenne échelle.

Variabilité des ressources génétiques disponibles pour les caractères de résistance à la sécheresse

Le riz est caractérisé par un système racinaire superficiel et assez peu développé en comparaison avec d'autres espèces de céréales telles le maïs ou le sorgho. Une variation génétique significative entre variétés a, cependant, été observée pour des caractères morphologiques comme le nombre de racines, leur diamètre, la profondeur atteinte, la ramification, la distribution de la densité et le rapport masse racinaire sur masse de la partie aérienne ainsi que pour des caractères liés à l'activité racinaire comme le profil d'extraction de l'eau, l'activité en profondeur et la résistance à l'arrachement (O'Toole et Bland, 1987). Des différences d'ajustement osmotique ont également été rapportées.

L'organisation de la variabilité des caractères de résistance à la sécheresse chez *Oryza sativa* reflète la structure génétique de l'espèce. Avec les partenaires de l'Upland Rice Research Consortium, nous avons évalué un groupe de 100 variétés pluviales traditionnelles et améliorées pour leur développement racinaire (Courtois et al, 1996), et un sous-ensemble de 40 pour leur ajustement osmotique (Robin et al, résultats non publiés). Les variétés de riz pluvial cultivées en Asie appartiennent à trois groupes enzymatiques différents (japonica, indica et aus). Les japonicas ont généralement montré un système racinaire épais, peu ramifié et profond, une bonne pénétration racinaire mais une faible tolérance à la déshydratation et

peu d'ajustement osmotique des tissus aériens. Les variétés indica avaient en revanche un système racinaire fin, ramifié et superficiel mais une bonne tolérance à la déshydratation et un bon ajustement osmotique. Les variétés aus ont enregistré des performances moins claires : elles se rapprochaient des indica pour ce qui est de l'ajustement osmotique mais leurs racines étaient profondes et de diamètre intermédiaire. La stratégie de résistance à la sécheresse des variétés aus est avant tout basée sur un cycle très court qui leur permet d'échapper aux sécheresses de fin de cycle dues aux courtes moussons d'Asie du Sud. La variabilité inter-groupe s'est avérée supérieure à la variabilité intra-groupe. Il semblait difficile, sur la base du seul phénotype, de trouver dans les variétés d'*O. sativa* couramment exploitées par les sélectionneurs des donneurs de profondeur racinaire permettant d'aller plus loin que les variétés pluviales de type japonica.

Ces résultats ont été confirmés par Lafitte et al (2001) qui ont étudié un jeu de variétés traditionnelles provenant de tous les écosystèmes et appartenant aux 6 groupes enzymatiques. La variabilité intra-groupe est également apparue limitée sauf pour les groupes hétérogènes en terme d'adaptation à un écosystème (opposition aus/boro dans le groupe des aus et bulu/riz pluviaux dans le groupe des japonica).

La stratégie d'amélioration génétique choisie a donc consisté à rester proche du type de plante et du fond génétique utilisé dans le système de production cible, et d'introgesser les caractères manquants à partir d'autres groupes variétaux. Dans nos conditions, cette stratégie a signifié introgesser des allèles de profondeur et d'épaisseur racinaire dans les indica d'Asie du sud et introgesser des allèles d'ajustement osmotique dans les japonicas d'Asie du sud-est.

Nous nous sommes essentiellement intéressés à la variabilité existant dans *O. sativa*. Or cette espèce d'origine aquatique ne possède pas forcément une variabilité suffisante pour tous les caractères. Ses mécanismes physiologiques sont ceux d'une plante aquatique. Sa morphologie racinaire (aérenchyme et hypoderme subérisé) également. Pour améliorer l'adaptation à la culture pluviale il faudrait la transformer en une plante totalement aérobie. Seule *Oryza granulata* (diploïde, génome G) est vraiment une plante de zones bien drainées qui meurt en conditions asphyxiantes. Des croisements ont été tentés à l'IRRI par le groupe travaillant sur les hybridations distantes mais les introgressions sont très rares et les descendances n'ont rien donné d'intéressant. D'autres travaux ont été entrepris pour exploiter les ressources génétiques des espèces sauvages de génome A (Liu et al, 2004). Les espèces sauvages ne semblent pas être une meilleure source de profondeur racinaire que les variétés japonicas bien que certaines accessions aient une masse racinaire en profondeur importante.

Il reste, toutefois, que les programmes de sélection n'exploitent qu'une toute petite partie de la variabilité de l'espèce et qu'une exploration plus systématique et poussée de l'ensemble des ressources génétiques pourrait permettre soit de trouver des accessions avec des phénotypes transgressifs, soit de mettre en évidence des allèles à effet favorable masqués dans des accessions à phénotype anodin (Tanksley et McCouch, 1994).

Déterminisme génétique des composantes du système racinaire.

Le développement des marqueurs moléculaires (disponibilité de RFLPs, apparition des microsatellites) nous offrait l'opportunité de localiser avec précision les gènes contrôlant la morphologie racinaire dans le génome, et d'en évaluer l'effet dans l'idée de les manipuler ultérieurement en sélectionnant des allèles aux marqueurs qui leurs sont liés.

Les premiers travaux sur ce thème ont été conduits à l'IRRI par Champoux et al (1995). La population utilisée, Co39 x Moroberekan, était toutefois fortement biaisée vers le parent Co39 à système racinaire réduit. Nous avons repris ce travail et analysé la morphologie racinaire d'un croisement potentiellement plus intéressant. Nous disposons d'une population de lignées HD dérivée d'un croisement entre une variété indica à système racinaire peu

développé mais productive, IR64, et une variété japonica à système racinaire long et profond, Azucena. Cette population avait été développée par E. Guiderdoni (Guiderdoni et al, 1992) et était déjà cartographiée avec des marqueurs RFLPs (Huang et al, 1994). Un croisement distant s'imposait du fait du polymorphisme limité de ce type de marqueur. Cette contrainte s'est, depuis, relâchée avec le développement de marqueurs microsatellites. Une population fixée était indispensable du fait de la faible héritabilité attendue des caractères rendant nécessaires de nombreuses répétitions.

L'expérimentation a été conduite en serre selon les conditions décrites plus haut. Les héritabilités au sens large de la profondeur racinaire ($h^2=0.77$) et du poids de racines en profondeur ($h^2=0.60$) étaient raisonnables. L'analyse de QTL a montré que les deux caractères étaient contrôlés par des QTLs situés sur les chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 et 9 pour la profondeur racinaire et 1, 6, 7, et 9 pour la masse de racines en profondeur (A10). Les QTLs des chromosomes 1, 6, 7 et 9 étaient communs aux deux caractères. Les allèles favorables provenaient tous du parent japonica. Les QTLs expliquaient individuellement entre 4 et 21 % de la variabilité phénotypique et le modèle à QTL multiple entre 23 et 49 %. L'épistasie additive x additive était peu fréquente (5 % environ des cas testés) mais certaines des interactions non alléliques entre marqueurs situés sur des chromosomes différents étaient d'une intensité suffisante pour masquer l'effet additif des QTLs.

Depuis l'étude de Champoux et al (1995) et celle de Yadav et al (A10), toutes deux conduites en situations aérobies, le même genre d'approche a été utilisé avec plusieurs populations et des protocoles suffisamment voisins pour permettre des comparaisons significatives. Nous avons notamment répété ce travail avec la population IAC165 x Co39 (A28). Des conditions différentes (hydroponie, anaérobiose) ont été explorées (Price et Tomos, 1997; Kamoshita et al, 2002a). Les caractères analysés dans ces études étaient, comme dans notre cas, des caractères mesurés en conditions optimales et représentaient l'expression d'un potentiel. La pénétration des racines au travers d'horizons compactés a également fait l'objet de plusieurs travaux (Ray et al, 1996; Ali et al, 2000; Price et al, 2000). Une idée relativement claire s'est dégagée sur les QTLs racinaires communs à différents fonds génétiques (A14; Zhang et al, 2001). En parallèle, Kamoshita et al (2002b) ont évalué l'effet des conditions expérimentales confirmant l'importance des interactions GxE, et, dans une moindre mesure, QTLxE.

A l'époque, les moyens (carte génétique intégrative, carte physique, bioinformatique) manquaient pour projeter tous ces QTLs sur une carte unique et les comparaisons entre études étaient assez peu précises. La synthèse de ces différents résultats nous avait, toutefois, conduit à penser que les QTLs sur les chromosomes 1, 2, 7, et 9 étaient particulièrement prometteurs.

Nos études ainsi que celles des autres équipes n'ont concerné dans un premier temps que des QTLs représentant l'expression d'un potentiel en conditions optimales. Or, il est démontré que le système racinaire du riz est capable de croissance racinaire en profondeur et de changements de répartition de la biomasse entre parties aérienne et souterraine en réponse au stress (O'Toole et Bland, 1987). Cette réponse peut également être de grande valeur adaptative. Différentes équipes ont donc, dans un second temps, entrepris des études concernant les réponses adaptatives en conditions de stress. Hemamalini et al (2000), Zhang et al (2001), Price et al (2002) puis Zheng et al (2003) ont ainsi identifié de nombreux QTLs spécifiques mais très peu de QTLs exprimés quelles que soient les conditions expérimentales. Ils ont démontré l'intérêt de travailler sur des paramètres de réponse relative définis comme le ratio des paramètres racinaires mesurés en conditions contrastées pour mesurer la plasticité. Cette thématique de la plasticité racinaire et l'étude de son déterminisme génétique ont, depuis, été reprises au Cirad, dans le cadre d'un projet fédérateur (Perrin et al, sous presse; O19).



1. Sécheresse de saison des pluies, Cavinti, Philippines



2. Essai sécheresse de saison sèche. Irrigation obligatoire en début de cycle. Ici par aspersion, IRRI, Philippines



3. Essai sécheresse de saison sèche. Irrigation goutte-à-goutte, IRRI, Philippines



4. Gros plan sur le goutte-à-goutte. Arrêt irrigation possible sur une base parcellaire

Planche photo n°2: Essais sécheresse dans différentes situations
(Photos 1, et 2 B. Courtois; photos 3 et 4 R.Lafitte)

Déterminisme des performances au champ

Des essais au champ ont complété les essais en serre de manière à s'assurer que le comportement des variétés était reproductible en situation de peuplement normal (Planche photo n°2). Les essais au champ ont, pour l'essentiel, été conduits en saison sèche car les périodes de sécheresse sont beaucoup trop imprévisibles en saison des pluies quel que soit le pays. Une irrigation de complément est alors indispensable (par gravité ou par aspersion).

L'une des questions à laquelle nous avons cherché à répondre dans ces essais au champ et donc soumis aux interactions QTL x environnement était de savoir s'il était possible d'améliorer productivité et stabilité de manière indépendante. Nous avons cherché à adopter une approche méthodologique voisine de celle développée par Romagosa et al (1995).

Stress au stade végétatif

Dans une situation agronomique de production, la plante ne peut se permettre de bloquer toutes ses fonctions physiologiques. Elle doit faire preuve d'une bonne turgescence même quand le potentiel hydrique du sol descend sous la capacité au champ, ce qui maintient une activité physiologique, notamment l'expansion foliaire, et permet de limiter la réduction du rendement sous stress. De manière classique, les sélectionneurs utilisent des critères plus ou moins directement liés à la turgescence (en positif comme en négatif) comme des caractères secondaires d'évitement mesurables à des stades précoces. Parmi ces caractères parfois complexes à mesurer au champ, l'enroulement foliaire, la dessiccation foliaire, la température du couvert végétal, la vitesse de fermeture stomatique, la transpiration cuticulaire, la teneur en eau relative des feuilles, et le taux de croissance relative de la biomasse.

Nous avons ainsi étudié les performances en champ de diverses populations de cartographie et recherché des QTLs pour ces caractères.

Avec R. Yadav et des collègues de la Central Rainfed Upland Rice Research Station d'Hazaribag en Inde, nous avons travaillé sur la population IR64 x Azucena (A15) en trois environnements (un essai en Inde et deux aux Philippines). Ces essais ont permis d'identifier des QTLs d'enroulement foliaire, de dessiccation foliaire, de teneur en eau relative des feuilles et de taux de croissance relative sous stress. La plupart des QTLs n'étaient détectés que dans un environnement. Toutefois, quelques QTLs, concernant surtout l'enroulement foliaire et possédant les LOD scores les plus élevés, étaient communs aux trois essais. Dans ce cas, l'effet des QTLs allait toujours dans le même sens ce qui constituait un élément rassurant. En effet, pour permettre une utilisation des QTLs dans les programmes de sélection, compte tenu de la diversité des conditions de sécheresse possibles et de leur nature imprévisible, il semble indispensable que ces allèles soient efficaces, ou à défaut neutres, dans le plus grand nombre d'environnements possibles et que des inversions de l'allèle favorable au QTL ne soient pas rencontrées. Au sein d'un essai donné, des QTLs étaient communs à plusieurs caractères foliaires et certains se cartographiaient à la même place que des QTLs de morphologie racinaire identifiés précédemment. Ceci laissait penser que certains segments sur les chromosomes 1, 5, 6 et 9 pouvaient être de bons candidats pour une dissection plus poussée.

Dans le cadre d'une collaboration avec un chercheur de l'Université de Bangor (UK), nous avons évalué aux Philippines sur deux saisons la population Azucena x Bala qu'il avait développée et qu'il a, par la suite, testée en Côte d'Ivoire (A13; A19). Ses résultats montraient, par opposition aux précédents, une faible co-localisation entre QTLs racinaires et autres QTLs d'évitement comme l'enroulement foliaire, la dessiccation foliaire, ou la teneur en eau relative des feuilles. Cette conclusion reflète la complexité de l'évaluation de la résistance à la sécheresse que cela soit dans la conduite des essais, dans leur représentativité de conditions

réelles et dans le poids de facteurs parasites environnementaux (compaction du sol) ou intrinsèque au matériel (variations de biomasse et de structure de la canopie). Ce constat nous avait conduit à suggérer l'utilisation, dans ce type d'essai, de matériel beaucoup plus homogène tel que les lignées quasi-isogéniques ou les populations de backcross avancé (A13).

Nous avons également évalué les populations IAC165x Co39 et Vandana x Moroberekan en élargissant la gamme des caractères étudiés à la transpiration cuticulaire, le pourcentage du poids frais de la feuille et la pression racinaire (publication en préparation).

Stress au stade reproductif

Un stress de courte durée imposé au stade végétatif n'affecte qu'assez peu le rendement final. L'anthèse est, en revanche, le stade de sensibilité maximale du riz à la sécheresse. Toutefois c'est également le stade auquel il est le plus difficile d'évaluer les performances, un petit changement de phénologie se traduisant par de grosses différences en terme de stress ressenti.

Nous avons exploré deux types de dispositifs visant à assurer un stress au même stade phénologique sur toutes les variétés : des semis décalés associés à un système d'irrigation par aspersion et un système de goutte à goutte permettant de couper l'irrigation sur une base parcellaire. Nous disposons pour chaque essai de parcelles témoins irriguées et de parcelles soumises à un déficit hydrique.

Nous avons travaillé avec deux populations, IR64 x Azucena (O11) et Co39 x Moroberekan (résultats non publiés). Dans le cas de la population IR64x Azucena, comme attendu, le rendement, la stérilité, le poids de 1000 grains et l'indice de récolte ont été les paramètres les plus affectés par le traitement. Le stress a induit un retard important à la floraison de l'ordre d'une dizaine de jours. Des interactions génotype x traitement ont été observées. Malgré le soin apporté à contrôler la phénologie, le rendement était négativement corrélé avec la longueur du cycle semis-floraison. Ce lien ayant aussi été observé sur cette même population dans un environnement irrigué, il peut être constitutif. L'influence de la biomasse est considérable dans ce croisement. L'intervalle contenant *sdl*, le gène de semi-nanisme, avait un effet important sur la stérilité, le rendement et l'indice de récolte en toutes conditions. Le retard à la floraison semble, par ailleurs, un caractère intéressant à mesurer, négativement corrélé au rendement sous stress. Des QTLs de composantes du rendement ont été identifiés à chaque saison et dans chaque condition. Quelques QTLs sont détectés dans tous les environnements mais la plupart sont spécifiques d'un environnement. Les QTLs identifiés pour les composantes du rendement sous stress n'étaient pas identifiés dans l'environnement bien irrigué indiquant qu'une sélection sur le potentiel de rendement seul est insuffisante pour assurer un rendement élevé sous stress. Certains de ces QTLs co-ségrégeaient avec des QTLs de profondeur racinaire.

Ces essais nous ont montré la difficulté d'assurer un stress de niveau comparable à des parcelles à un stade phénologique donné et la très nette supériorité du système goutte à goutte pour y parvenir du fait de sa gestion par parcelle plus souple. Ils ont confirmé également l'influence omniprésente du gène *sdl* dans les populations mettant en jeu des variétés indica améliorées.

Les QTLs identifiés sont intéressants mais doivent être confirmés. Les données obtenues au stade reproductif restent très rares chez le riz. Quelques articles récents commencent cependant à combler ce manque (Lanceras et al, 2004 ; Yue et al, 2005).

Lignée HD utilisée
comme donneur,
portant les allèles
voulus aux QTLs et plus
de 50% d'allèles du
parent récurrent dans
le reste du génome

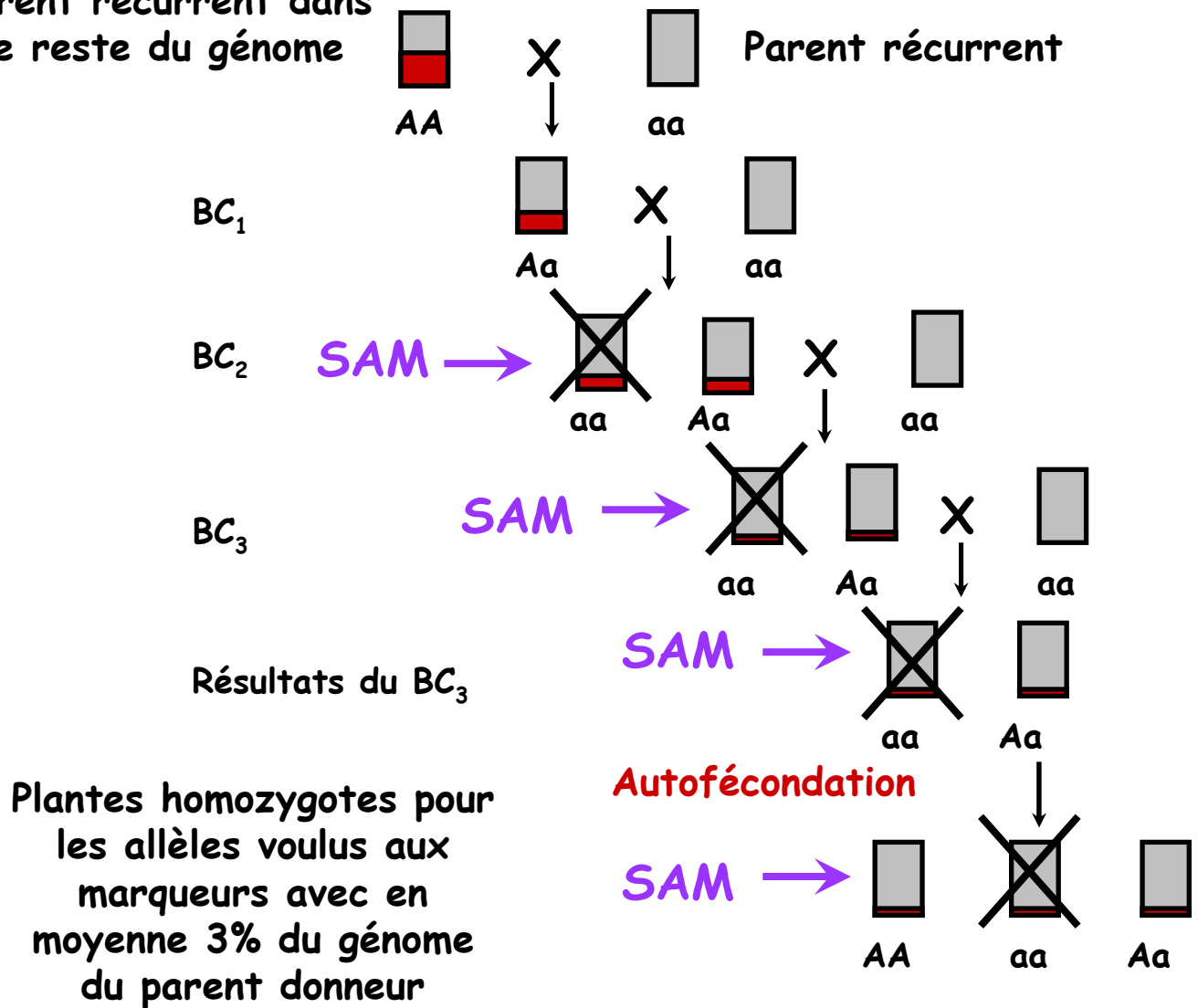


Figure 3 : Schéma de sélection utilisé pour l'introgression de QTLs de profondeur racinaire

Validation des QTLs de profondeur racinaire par sélection assistée par marqueurs

Une fois identifiés des QTLs à effet raisonnablement général, nous avons entrepris d'utiliser ces QTLs pour améliorer une variété élite. Notre objectif était de valider l'existence et l'effet des QTLs et de produire des lignées quasi-isogéniques potentiellement utiles pour des études physiologiques. Des travaux avaient montré l'efficacité de cette approche pour les gènes majeurs de résistance à la pyriculariose (Inukai et al, 1996; Hittalmani et al, 2000) et au flétrissement bactérien (Huang et al, 1997) mais aucun résultat n'était à l'époque disponible sur des QTLs chez le riz

Nous avons entrepris d'introgesser les allèles de profondeur racinaire d'Azucena dans le fond génétique de IR64 choisi comme parent récurrent. Nous avons choisi de partir de lignées HD de la population IR64 x Azucena dont le profil allélique était connu et dont certaines portaient déjà les allèles favorables à 1 ou plusieurs QTLs. Les 4 QTLs des chromosomes 1, 2, 7, et 9 ont été manipulés indépendamment. Le schéma de sélection s'est étalé sur 3 ans (Figure 3). La SAM a porté à la fois sur les zones à introgresser et le fond génétique.

Les lignées BC₃F₃ choisies pour représenter des profils de recombinaison différents aux zones cibles ont été évaluées phénotypiquement dans les mêmes conditions qu'indiquées plus haut. Pour toutes les zones introgressées à l'exception de celle du chromosome 2, des lignées à système racinaire plus profond qu'IR64 ont été identifiées (A16). La comparaison du profil allélique de ces lignées n'a toutefois pas permis de positionner avec certitude les QTLs dans des intervalles plus étroits que ceux de départ.

L'expérience acquise lors de ce travail nous a montré la nécessité de localiser le QTL dans l'intervalle de confiance le plus petit possible, de déterminer l'existence de QTL en répulsion en utilisant des techniques d'analyses appropriées et de mesurer l'épistasie.

L'évaluation de ces lignées en serre puis en champ ont montré un tallage réduit pour toutes les lignées ainsi que de l'hétérogénéité pour la taille dans certaines lignées. Les effets pléiotropes des QTLs sur le tallage ne peuvent être exclus, mais nous avons attribué ces résultats à la "trainée de liaison" puisque les segments introgressés avaient délibérément été choisis longs, compte tenu de l'imprécision statistique dans la localisation des QTLs.

Une évaluation plus fine de ces lignées en conditions aérobies sous différents régimes hydriques a montré que les lignées à profondeur racinaire accrue se comportaient mieux que les lignées n'exprimant pas ce caractère et que certaines surpassaient IR64 dans toutes les situations testées (Lafitte, communication personnelle). Ces lignées quasi-isogéniques constituent un bon matériel pour une cartographie fine des zones intéressantes qui a été utilisé par des collègues indiens (Hittalmani et Sashidar, Université d'Agriculture de Bangalore, communication personnelle).

Par ailleurs, une équipe associant K. Steele de l'Université de Bangor et A. Price de l'Université d'Aberdeen avec qui nous collaborions a entrepris l'introgession de ces mêmes QTLs d'Azucena dans une lignée pluviale d'élite Kalinga III, très appréciée des paysans indiens. Le contexte était de nouveau celui d'un croisement indica x japonica mais, la différence avec les autres travaux est qu'aucune étude préalable n'avait déterminé la position des QTLs chez Kalinga III. Cette situation se rapprochait d'une situation normale pour les sélectionneurs qui ne disposent pas de l'information pour tous les génotypes. Nous avons participé à la conception du programme et réalisé les premiers croisements et backcross à l'IRRI. Après cinq ans de sélection assistée par marqueurs, ils aboutissent à des conclusions assez proches des nôtres à savoir que le QTL du chromosome 9 est le plus intéressant, les autres QTLs n'ayant pas d'effet dans le contexte de leurs essais (Steele et al, 2006). Ces

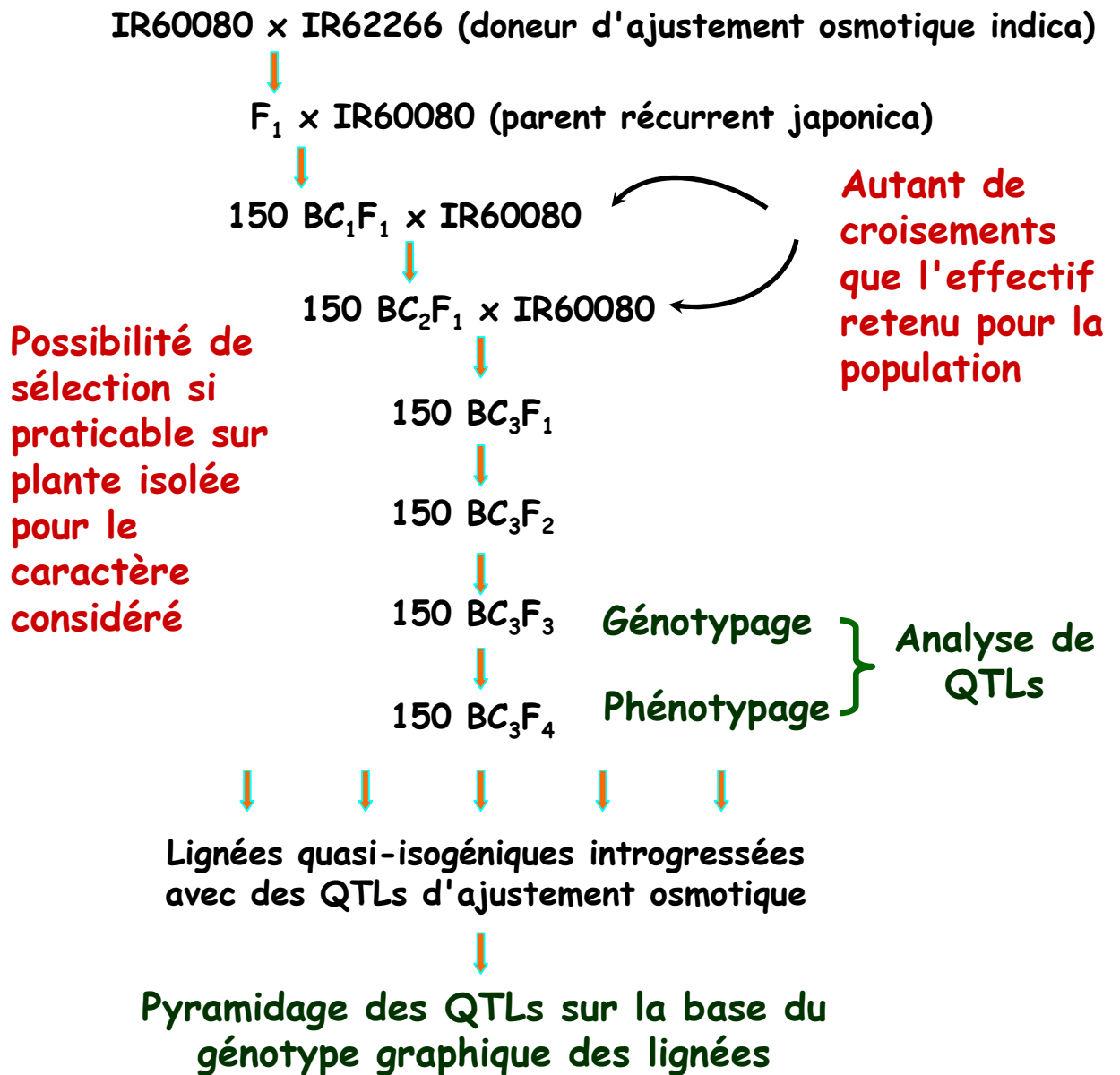


Figure 7 : Un exemple de back-cross avancé. Transfert de l'ajustement osmotique d'une variété indica à une variété japonica

résultats, assez décevants peuvent s'expliquer par les conditions des essais et le monomorphisme de certains QTLs dans le croisement.

Développement de lignées quasi-isogéniques par une approche de backcross avancé

L'étude conduite avec L. Shen avait montré qu'il était possible de sélectionner des lignées améliorées dans la descendance du croisement où avait été effectuée la détection de QTLs. Toutefois, dans les programmes de sélection classique, l'information sur les QTLs est rarement disponible dans le fond génétique approprié. La méthode que nous avons utilisée pour l'introgression de QTL qui sépare la détection de QTLs de la sélection assistée par marqueurs était typique de l'approche utilisée dans les années 80. D'autres options sont apparues telle l'approche de backcross avancé qui permet la découverte et le transfert simultané des QTLs intéressants d'un donneur inadapté dans une variété élite (Tanksley et Nelson, 1996).

Nous avons utilisé cette méthode pour introgresser des QTLs d'ajustement osmotique d'IR62266 un donneur indica, dans IR60080-46A, une variété élite japonica (A27). Les indicas sont capables d'ajustement osmotique contrairement aux japonicas. Nous avons développé une population de 150 familles BC₃F₃ (Figure 4) que nous avons génotypées avec des marqueurs RFLP et microsatellites. Chacune de ces familles était supposée porter quelques segments du donneur introgressés au hasard. Nous avons évalué ces familles en serre en utilisant la technique de réhydratation (Blum et Sullivan, 1986). Comme attendu avec des introgressions limitées et aléatoires, la distribution était centrée autour du parent récurrent. Aucune des lignées n'avait un ajustement osmotique proche de celui du parent donneur. Par cartographie d'intervalle composite, nous avons détecté 14 QTLs localisés sur les chromosomes 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, et 10 expliquant ensemble 58% de la variabilité. La plupart des allèles favorables provenaient du parent indica mais pas tous. Sur le chromosome 8, 2 QTLs étaient liés avec les allèles favorables en répulsion. La position de ces QTLs était cohérente avec les QTLs détectés dans la littérature (Lilley et al, 1996).

Ces lignées sont intéressantes pour tester l'intérêt de l'ajustement osmotique comme caractère de résistance à la sécheresse. Il est peu probable que l'ajustement osmotique ait un intérêt dans toutes les situations de stress -le stress doit s'établir lentement pour que l'ajustement osmotique puisse se manifester- mais ce matériel pourrait permettre de définir les situations pour lesquelles ce caractère présente un intérêt.

La méthode de backcross avancé semble probante en terme d'efficacité bien qu'il soit probablement plus facile de s'arrêter en BC₂ pour une première évaluation du matériel, les BC₃ possédant trop peu d'allèles du parent donneur et étant donc plus sensibles aux erreurs de génotypage. Une combinaison phénotypage/génotypage, quand elle est possible, devrait permettre d'améliorer l'efficacité globale de l'approche.

Simultanément, en collaboration avec nos collègues indiens du CRURRS, nous avons également développé une population de backcross avancé avec Vandana, une variété pluviale d'élite cultivée en Inde comme parent récurrent, et Moroberekan comme parent donneur de résistance à la pyriculariose et de racines épaisses. Nous avons analysé la résistance à la pyriculariose (A29), les performances au champ et le comportement vis à vis de la sécheresse des descendances (Lafitte et Courtois, en préparation).

Il est certain que des introgressions dirigées aboutiraient à un matériel plus intéressant pour localiser des QTLs dans un intervalle avec un haut degré de confiance que les introgressions laissées au hasard. Il aurait été intéressant de réaliser un jeu de lignées de substitution à partir de ce matériel, c'est-à-dire un ensemble de quelques dizaines de lignées ayant chacune introgressé dans un fond génétique unique un segment chromosomique

différent provenant d'une variété donneuse et dont l'ensemble couvre le génome entier. Mais cela aurait demandé plus de temps et de ressources que ce dont nous disposons pour ce programme.

Approche gènes candidats

La connaissance des gènes sous-tendant les QTLs rendrait la SAM plus efficace. Des marqueurs situés dans les gènes eux-mêmes permettraient, en effet, de diminuer sensiblement les risques de perte des gènes par recombinaison entre les marqueurs et le gène d'intérêt durant les phases de backcross et les problèmes de "trainée de liaison". De nombreux gènes candidats pouvant intervenir dans des voies métaboliques améliorant la résistance à la sécheresse ont été proposés (Ingram et Bartels, 1997; Cushman et Bohnert, 2000; Reddy et al, 2002). Ils peuvent être cartographiés de manière à vérifier s'ils co-ségrègent avec des QTLs connus. Nous avons collaboré avec M.S. Pathan, de Texas Tech University, afin de positionner 35 gènes candidats pour l'ajustement osmotique sur la carte génétique de la population IR60080 x IR62266. Sept gènes se sont révélés polymorphes dans notre population mais six seulement ont pu être cartographiés (A27). Cinq d'entre eux se cartographiaient sur des zones dépourvues de QTLs. Seul WS1, un ADNc induit par un stress hydrique, se cartographiait au voisinage d'un QTL sur le chromosome 7.

Bien que l'approche "gènes candidats" puisse apparaître très attractive, ces résultats en montrent les limites. Le nombre de gènes à tester augmente exponentiellement avec les progrès de la génomique et une bonne connaissance des voies métaboliques en cause est indispensable pour faire le choix de ceux sur lesquels travailler. Il est nécessaire d'avoir du polymorphisme dans la population de cartographie. Enfin la co-ségrégation est un indice mais pas une preuve de causalité, la présence de groupes de gènes étroitement liés étant courante notamment pour les gènes de résistance aux maladies.

Toutefois, depuis le séquençage complet du génome du riz en 2002, le problème s'est beaucoup simplifié puisque n'importe quel gène de séquence connue peut désormais être cartographié sans difficulté *in silico*. Il reste néanmoins à déterminer lequel parmi les gènes qui co-localisent est responsable du phénotype.

Conclusion

Ces années de recherche sur la résistance à la sécheresse du riz pluvial ont permis des progrès importants dans la méthodologie d'évaluation de la résistance à la sécheresse du riz pluvial, la compréhension du déterminisme génétique de certains caractères y contribuant et la localisation de QTLs ou de gènes d'intérêt. Ce travail constituait une étape indispensable mais les résultats obtenus en utilisant ces informations ont montré que, pour obtenir un produit de qualité, il sera nécessaire d'aller plus loin dans la cartographie fine et l'identification des gènes individuels qui sous-tendent ces QTLs. En cela, le matériel produit (populations de cartographie, lignées quasi-isogéniques) devrait être précieux. Il sera également nécessaire de pyramider l'essentiel des QTLs détectés pour faire vraiment la différence en conditions de champ et, de ce fait, de réfléchir à des stratégies d'introgression d'allèles plus efficaces que les back-cross (approches populationnelles notamment).

Projet de recherche

Bases génétiques de la résistance à la sécheresse chez le riz: des QTLs aux gènes et des gènes aux allèles

Le riz face aux défis du futur

Entre 1984 et 2004, les surfaces rizicoles mondiales ont augmenté de 6,0%, la production de riz de 31% et les rendements moyens de 19%. Des progrès importants ont donc été obtenus compte tenu du niveau de départ déjà élevé des rendements en 1984 (3,25 t/ha). Mais l'effort ne peut être relâché. Accompagnant l'augmentation de population (un milliard tous les 14 ans), il est prévu une forte progression des besoins (+ 40 à 60% dans les 25 années à venir), plus rapide que l'accroissement tendanciel de la production mondiale (Trébuil et Hossain, 2004).

La production va être limitée par les faibles possibilités d'extension des surfaces irrigables, et les aléas liés aux grands changements climatiques. Les augmentations de production devront se faire avec un respect accru de l'environnement (diminution de l'utilisation des engrais et des pesticides; diminution de la production de méthane dans les rizières). La réduction des disponibilités en eau et l'augmentation de son coût due à la concurrence des usages non-agricoles est une tendance forte qui ne risque pas de s'inverser, ce qui devrait donner plus d'opportunités aux rizicultures économes en eau, au détriment de la riziculture irriguée. La main d'oeuvre agricole va se raréfier avec l'accès à des activités non agricoles plus rémunératrices et moins pénibles, contribuant à la disparition du repiquage au profit du semis direct. L'agriculture de subsistance va progressivement perdre de l'importance (Pingali, 1997) et la diversification de la demande en matière de qualité va se poursuivre.

Il faudra donc, dans les 25 années à venir, augmenter la production de 1,5% par an, en utilisant moins de terre, moins d'eau, moins de main d'oeuvre et moins d'intrants chimiques et en répondant aux exigences croissantes en matière de qualité du riz. L'amélioration variétale a donc encore un très grand rôle à jouer pour participer à la réalisation de ces objectifs. Le potentiel de rendement des variétés cultivées devra augmenter que cela soit via la sélection généalogique classique, qui a montré une excellente efficacité par le passé, l'extension des riz hybrides, la vulgarisation de riz hybrides indica x japonica ou l'adoption du "new plant type" (Courtois, 2007). La stabilité des rendements des variétés de riziculture non irriguée, au travers notamment d'une meilleure résistance aux stress hydriques (sécheresse ou inondation), devra être améliorée.

Bien qu'il faille se garder d'un optimisme excessif quant à la vitesse d'impact des progrès de la biologie moléculaire et de la génomique sur l'amélioration variétale, il est sûr que les outils qui en sont issus, en particulier la sélection assistée par marqueurs portant sur des gènes clairement identifiés, faciliteront le travail des sélectionneurs.

La sécheresse continue à être un problème majeur dans les écosystèmes rizicoles non irrigués qui représentent 45% des surfaces en riz. Elle affecte la vie et le revenu de millions de personnes. Le caractère, de par sa complexité, reste un défi pour les chercheurs. La sophistication croissante des outils moléculaires et statistiques, et le haut débit permettent d'aborder le problème sous des angles nouveaux. L'amélioration génétique de la résistance à la sécheresse fait donc l'objet d'un regain d'intérêt au niveau mondial avec de grands programmes de recherche qui y sont consacrés, notamment le Generation Challenge Program (GCP) dans lequel notre UMR est très fortement investie. D'où le choix d'approfondir ce sujet.

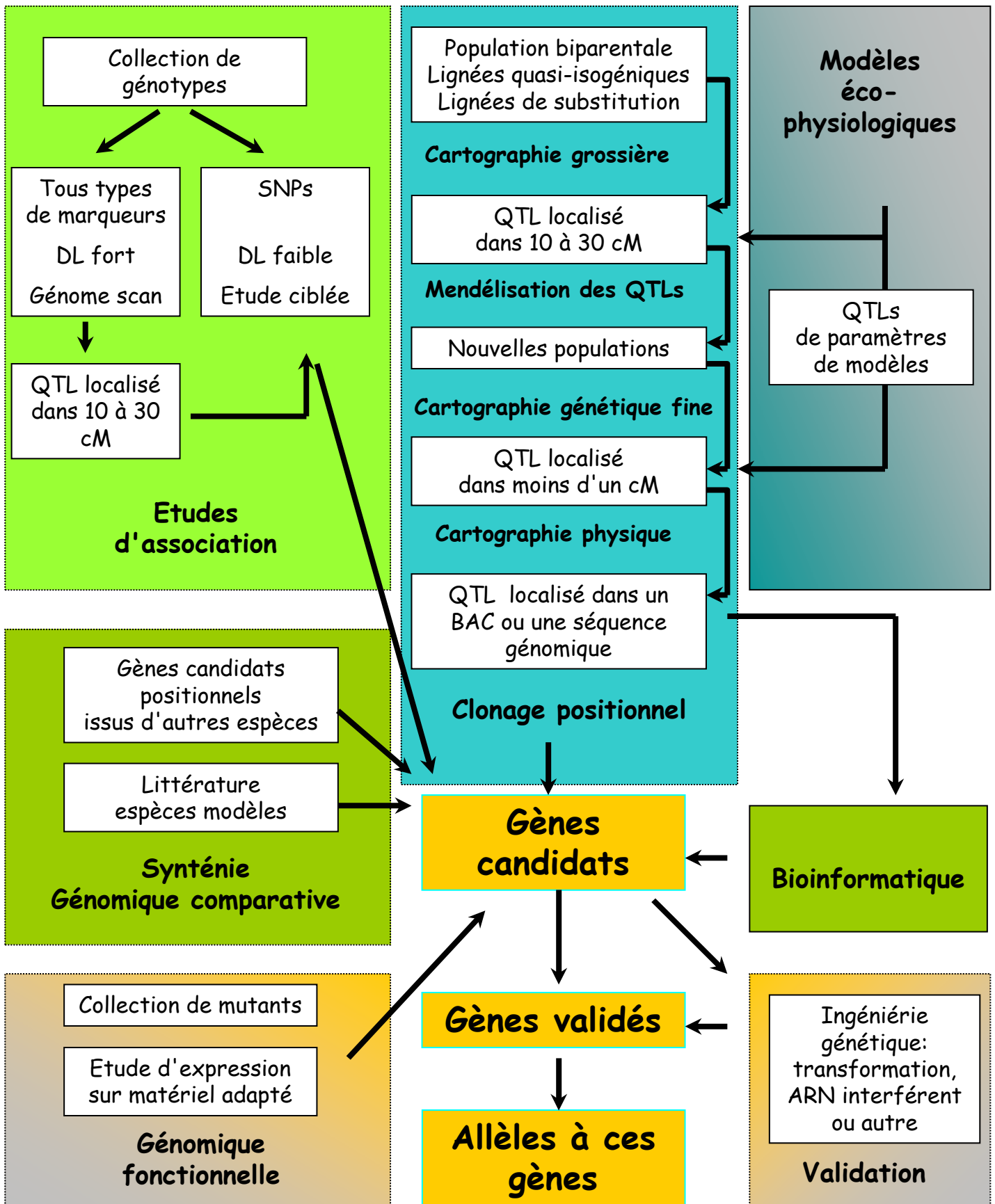


Figure 5 : Diagramme intégratif aboutissant à l'identification des gènes sous-tendant les QTLs. Inspiré de Salvi et Tuberosa (2005).

Parmi les caractères de résistance à la sécheresse, un système racinaire puissant et profond se mettant rapidement en place en début de culture et en situation de compétition ou de stress hydrique est un caractère important pour le riz, du fait de son rôle dans la captation des ressources hydriques et minérales et dans la capacité de la plante à survivre à des déficits passagers de ces ressources. Le système racinaire sera donc l'un des caractères principaux sur lequel nous feront porter nos efforts. Une étape cruciale à l'heure actuelle consiste à relier les nombreux QTLs de morphologie racinaire identifiés chez le riz aux gènes sous-jacents. Le très important corpus de connaissances accumulées sur les mécanismes moléculaires contrôlant le développement du système racinaire d'*Arabidopsis* constitue une bonne base de départ pour travailler sur la conservation de ces mécanismes entre les deux espèces (Benfey et Scheres, 2000; Birnbaum et al, 2003). Néanmoins, l'appareil racinaire du riz est un système complexe, fasciculé, hautement ramifié, issu du développement des racines nodales, avec une anatomie et une organisation différentes de celles d'*Arabidopsis* (Périn et al, 2005). Il présente notamment une spécialisation histologique comme le montre l'existence d'aérenchymes, d'un exoderme et d'un sclérenchyme chez le riz. Les différences entre les systèmes racinaires des deux espèces doivent aussi se traduire par une spécificité des gènes en cause ou de leur expression qu'il faut donc également explorer dans l'espèce cible.

Les questions de recherche

Chez les espèces végétales, les résultats des analyses de QTL et de cartographie de gènes candidats démontrent qu'il n'est pas évident de positionner avec précision les QTLs ni d'identifier les gènes responsables des variations phénotypiques. L'intervalle de confiance sur la position des QTLs détectés dans des populations de cartographie d'effectif raisonnable (100 à 200 individus) fait rarement moins de 5 cM et dépasse parfois les 30 cM. Cette taille importante résulte du faible nombre de recombinaisons efficaces qui ont pu se produire durant le développement d'une population de cartographie. Les résultats expérimentaux des travaux sur l'introgession de QTLs montrent que la sélection assistée par marqueurs sera d'autant plus efficace que cet intervalle de confiance sera réduit, que des marqueurs très étroitement liés aux gènes en cause seront identifiés voire que les marqueurs seront situés dans les gènes eux-mêmes, éliminant le risque de perdre les allèles favorables du fait de recombinaisons entre marqueur et gène (Ahmadi et al, 2002).

Les questions de recherche que je compte aborder sont donc les suivantes:

- Quels sont les bases génétiques de la résistance à la sécheresse chez le riz, et plus particulièrement des paramètres racinaires (loci et gènes en cause)?
- Parmi les gènes contrôlant le développement racinaire, quels sont ceux responsables de la variation du caractère étudié dans les différents groupes variétaux? Différent-ils, en particulier, entre indicas et japonicas tropicaux dont l'adaptation écologique est différente? Que peut-on en déduire sur l'histoire évolutive de l'espèce?
- Comment se répartissent ces gènes entre gènes de structure et gènes de régulation?
- Quelle relation existe-t-il entre la diversité allélique à ces gènes et la valeur du phénotype dans des sous ensembles de ressources génétiques ciblés pour divers caractères?
- Comment combiner caractères, gènes et allèles aux gènes dans des génotypes adaptés aux environnements cibles?

Des approches complémentaires développées dans l'UMR DAP

Plusieurs approches complémentaires sont possibles pour identifier les gènes contrôlant des caractères agronomiques importants, en comprendre la fonction, et analyser la diversité allélique à ces gènes (Figure 5). Ces méthodes relèvent de la génétique, de la

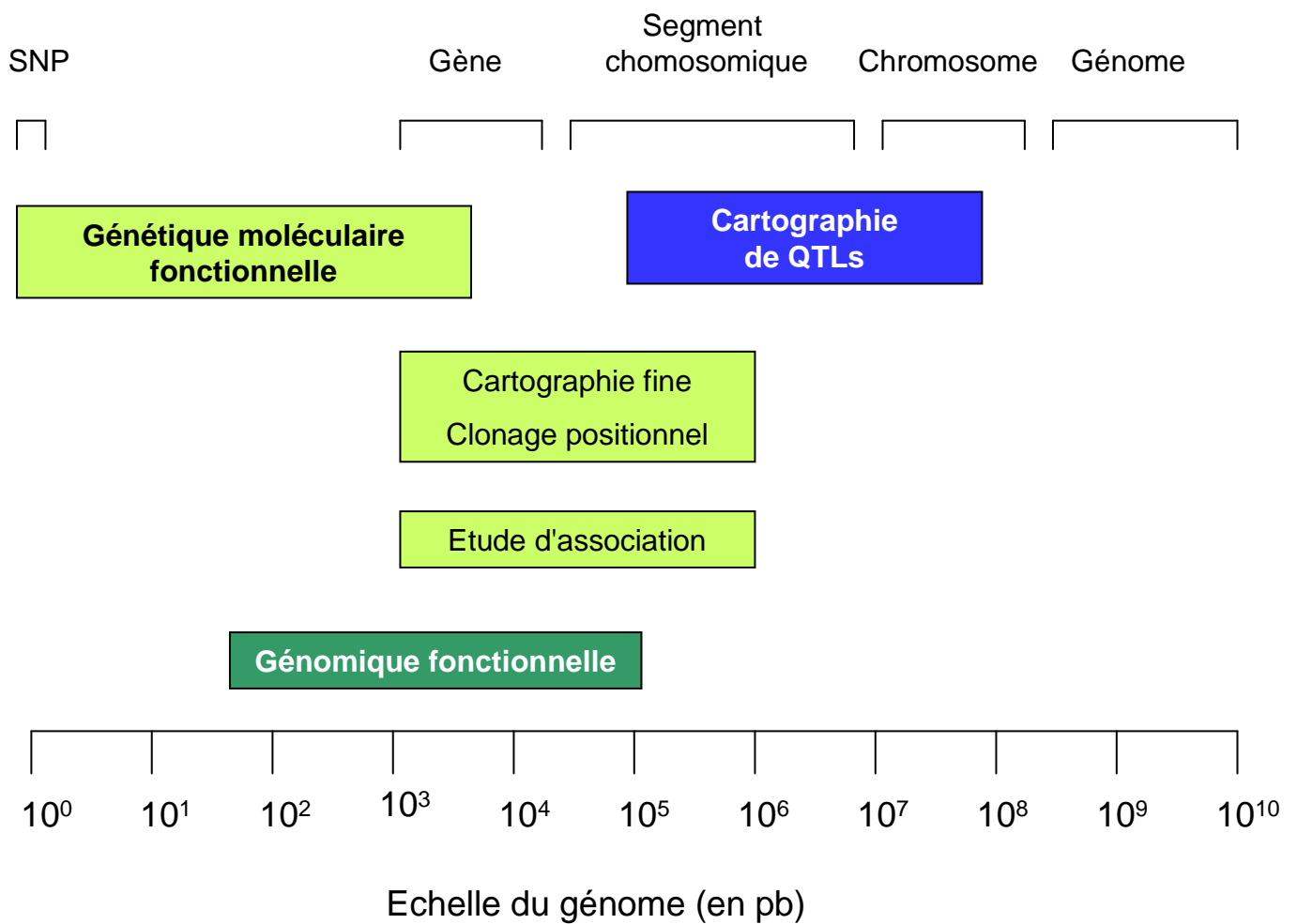


Figure 6 : Echelle des différentes approches complémentaires pour isoler des gènes intervenant dans le développement du système racinaire.
Adapté d'Ehrenreich et Purugganan (2006)

génomique fonctionnelle, de la génomique comparative, de la bioinformatique et de la modélisation (Glazier et al, 2002 ; Mackay, 2004; Salvi et Tuberosa, 2005). Ces stratégies sont mises en application dans notre UMR Développement et Amélioration des Plantes (DAP) par différentes équipes organisées en deux grands champs, portant l'un sur le développement et l'adaptation des plantes (axe DA), l'autre sur leur génétique et leur amélioration (axe GA).

Dans le cas du riz, l'équipe Développement et Adaptation du Riz (DAR) du champ DA se consacre à la compréhension des bases moléculaires des mécanismes intrinsèques présidant à la mise en place de l'architecture racinaire et aux modifications induites par un stress hydrique (Périn et al, 2005). Leurs trois grands axes de recherches concernent l'analyse du fonctionnement du méristème apical racinaire, le déterminisme de la spécification tissulaire et la différenciation des racines latérales et adventives. La stratégie de l'équipe DAR est centrée sur l'étude des facteurs de transcription (FTs) qui déterminent les réponses induites par les signaux endogènes et exogènes au niveau de la régulation du génome et, par le biais de programmes de différenciation cellulaire, le développement de l'organisme.

Les outils utilisés dans ces approches vont de l'identification d'orthologues Riz-*Arabidopsis*, à l'analyse du transcriptome sur puces spécialisées des différents secteurs racinaires à l'analyse de Knock Outs (insertion, RNAi) ou de surexprimeurs, la recherche de miARN et de facteurs *trans* ciblant respectivement les transcrits et séquences régulatrices des FTs, la recherche des effecteurs régulés par les FTs, l'incidence des signaux hormonaux ou autres (AIA, GA, brassino-stéroïdes, éthylène, etc), jusqu'à la validation fonctionnelle par transgène des gènes clés à la base des régulations cellulaires.

Je compte donc, pour ma part, privilégier des approches complémentaires qui caractérisent le champ GA et qui facilitent l'établissement d'un lien entre QTLs et gènes : méta-analyses, études d'association et clonage positionnel (Figure 6). Les méta-analyses car elles permettent de tirer profit à moindre coût des données accumulées par de nombreuses équipes (Chardon et al, 2004; Guo et al, 2006); les études d'association, car les résultats obtenus sur le maïs par Remington et al (2001), Thornsberry et al (2001), Wilson et al (2004) ou Camus-Kulandaivelu et al (2006) en démontrent les potentialités pour réduire le nombre de gènes candidats et comparer une large gamme d'allèles; le clonage positionnel de QTL, car les résultats obtenus sur le riz montrent qu'il s'agit d'une approche très efficace lorsque le matériel génétique approprié est disponible (Yano et al, 2000).

Dans le cadre de l'équipe Génomique et Sélection du champ GA, avec d'autres sélectionneurs et généticiens riz qui ont récemment rejoint l'équipe, nous travaillerons à combiner les allèles supérieurs identifiés et à les déployer.

L'intégration avec les approches de l'équipe DAR, qui relèvent pour beaucoup de la génétique inverse, se fera autour des gènes validés fonctionnellement co-localisant avec des QTLs qui pourront être utilisés dans des études de diversité allélique

1. Amélioration de la précision dans la localisation des QTLs par méta-analyses

De nombreux QTLs contrôlant des caractères de résistance à la sécheresse du riz, et parmi eux les paramètres racinaires, ont été identifiés dans différentes conditions expérimentales et certains ont été confirmés par des approches de cartographie fine (A16). Les outils statistiques s'améliorant (développement de modèles mixtes, de méthodes bayésiennes, de méthodes d'analyse de croisements multiparentaux connectés, de méta-analyses, prise en compte de l'épistasie et des interactions génotypes x environnement), comme les outils bioinformatiques (ancrage cartes génétiques / carte physique), il devrait être possible d'améliorer notre puissance et précision d'analyse en reprenant ces données.

Les populations de cartographie utilisées chez le riz ont des caractéristiques spécifiques qui se prêtent bien à une ré-analyse. La plupart sont des populations indica x japonica de lignées fixées dans lesquelles les mêmes deux grands types d'allèles ségrégent. Par ailleurs, la plupart de cartes de ces populations ont été construites avec les mêmes marqueurs de références, les RFLP ou les microsatellites développés à l'Université de Cornell. Il est envisageable, après transformation des données phénotypiques pour en homogénéiser les variances, de regrouper ces populations avec un codage en deux allèles et de tirer profit de la taille de population accrue pour améliorer la puissance de détection de QTLs, sur le modèle de ce qui a été fait chez la souris (Li et al, 2005).

Par ailleurs, nous avons entrepris de recenser manuellement les QTLs de la littérature ainsi que les informations afférentes, notamment les conditions dans lesquelles les QTLs ont été détectés, et projeté les QTLs identifiés sur un référentiel unique (Ahmadi et al, en préparation). Nous allons réaliser des méta-analyses de QTLs sur des sous-ensembles de données de qualité homogène en terme de conditions de détection, de manière à diminuer la taille de l'intervalle de confiance de la position des QTLs consensus (Goffinet et Gerber, 2000; Veyrieras et al, 2007). Des exemples de la puissance de cette méthode sont disponibles pour la durée de cycle chez le maïs (Chardon et al, 2004) et pour la résistance à un nématode chez le soja (Guo et al, 2006).

Les outils bioinformatiques développés dans notre unité (A37) permettront d'établir la liste des gènes qui se trouvent entre les bornes des QTLs consensus. Dans une seconde étape, dans le cadre d'une collaboration avec l'IRRI, nous comptons comparer ces données avec les données d'expression obtenues par une de ses équipes (Mauleon et al, résultats non publiés), dans le but de tester ultérieurement les candidats intéressants dans des études d'association (Gibson et Weir, 2005)

2. Cartographie fine des QTLs par le biais d'études d'association

Le principe

Les stratégies de détection de QTLs reposent sur la création, par le biais de croisements contrôlés, d'un déséquilibre de liaison (DL) fort entre gènes et marqueurs qui donne une valeur prédictive des allèles aux marqueurs sur les allèles aux QTLs dans la descendance des croisements. C'est l'intensité de ce DL qui crée l'intervalle de confiance sur la position des QTLs et la faible précision de leur localisation.

En génétique humaine, il n'est évidemment pas possible de développer des populations contrôlées et une autre approche a donc été imaginée qui utilise la diversité génétique des populations naturelles. Les études d'association recherchent une liaison statistique entre un polymorphisme moléculaire et une variation phénotypique dans une collection d'individus qui sont le produit d'un grand nombre de générations de recombinaisons. Le principe qui sous-tend ce genre d'approche n'a rien de différent de celui d'une analyse de QTLs. La précision sur la position du gène cible va être déterminée par l'intensité du DL existant dans la population. Si le DL n'est fort que sur une courte distance, la précision va être améliorée par rapport à une population de cartographie. Si le DL s'étend sur plusieurs cM, la précision ne sera pas meilleure mais il n'aura pas été nécessaire de développer une population spécifique, ni même de phénotyper le matériel dans le cas où des données antérieures de qualité sont disponibles. Ce dernier point est particulièrement intéressant pour les responsables de centres de ressources génétiques qui y voient un moyen de valoriser leurs travaux passés (voir exemple dans A45). Un autre intérêt non négligeable des études d'association est de permettre de comparer entre eux une large gamme d'allèles contrairement aux populations classiques de cartographie qui n'en exploitent que de deux à quatre.

La densité de marquage et le type de marqueur doivent être choisis en fonction de ce que l'on sait du DL dans l'espèce ou la population retenue. Quand le DL s'étend sur une distance très courte comme dans le cas du maïs où il disparaît entre 100 bp et 7 kb autour de certains gènes (Tenaillon et al, 2001), les seuls marqueurs utilisables sont les SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms). Dans le cas d'un DL s'étendant sur une distance plus longue, comme dans le cas d'*A. thaliana* où il atteint 250 kb (Hagenblad et Nordborg, 2002), d'autres types de marqueurs tels les microsatellites sont utilisables.

Une complication inhérente aux études d'association vient du fait que l'origine du DL peut être multiple. Les études d'association supposent que le DL est lié à la proximité physique sur un chromosome entre marqueur et gène (DL local) alors que le DL peut provenir de nombreuses autres sources liées à la biologie de l'espèce (régime de reproduction, durée de cycle) ou à l'histoire de la population (domestication, histoire des migrations, sélection naturelle ou dirigée) qui peuvent être rassemblées sous le terme de DL global ou de structure.

Il est donc essentiel, pour conduire des études d'association chez le riz sur une base rationnelle d'avoir une idée du niveau de DL tant local que de structure. Ce point constitue une des thématiques de recherche qu'il sera nécessaire d'aborder.

Des problèmes méthodologiques pour évaluer le DL

D'excellentes revues de la littérature sur le sujet montrent qu'il existe diverses méthodes pour mesurer le DL (Flint-Garcia et al, 2003 ; Gupta et al, 2005). A partir d'un jeu de données unique, les choix méthodologiques effectués peuvent conduire à des conclusions assez différentes.

Parmi les facteurs de variation figure l'indice utilisé pour mesurer le DL (D' , r^2 , test exact de Fisher, pour les plus courants). Les avantages et inconvénients de chacun ont été décrits dans ces publications, démontrant qu'il est souvent utile, pour se faire une idée juste, d'en associer plusieurs.

Toutefois, les différents types de marqueurs utilisables pour évaluer le DL se prêtent plus ou moins bien à l'exercice. Si les SNPs, bialléliques, ne posent pas de problèmes, des difficultés particulières sont, en revanche, attendues pour les marqueurs microsatellites, avec lesquels nous avons également travaillé, qui sont connus pour posséder un taux de mutation très élevé, et donc être particulièrement polymorphes. Certains indices de DL sont, en effet, très influencés par la présence d'allèles rares alors qu'il n'existe pas de méthode réellement satisfaisante pour les gérer. Des solutions de regroupement d'allèles apparemment prometteuses (agrégation autour de noyaux par maximum de vraisemblance, minimisation de la perte d'information entre paire de loci, distance entre l'arbre représentant la matrice de distance d'origine et divers arbres avec des allèles regroupés) sont en cours d'exploration par les biométriciens du GCP (Perrier, communication personnelle). Il nous restera à les tester sur nos données actuelles et futures.

Etendue du DL chez le riz

Dans le cas du riz, nous nous trouvons dans une situation de domestication ancienne (favorable à la recombinaison et donc à la décroissance du DL) chez une espèce autogame fortement sélectionnée (facteurs de maintien du DL). Le DL attendu est plutôt fort. La première étude conduite par Glaszmann (1986) avec deux marqueurs isozymiques dans une population de 2280 accessions démontrait que le DL de structure pouvait être fort entre marqueurs séparés de 1 cM. Garris et al (2003) ont détecté un DL significatif entre locus distants de 100 kb autour du gène de résistance au flétrissement bactérien *xa5* dans une collection de 114 variétés de type aus. Semon et al (2005) ont montré que chez *Oryza glaberrima*, le DL, mesuré avec des marqueurs microsatellites, ne diminuait pas avec la

distance physique entre marqueurs, attribuant les DL élevés entre marqueurs distants à l'existence d'une forte structure. Olsen et al (2006) trouvent la trace d'un balayage sélectif couvrant 40 kb en amont et 200 kb en aval du gène *waxy* chez des japonica tempérés. Les résultats sur le riz, assez peu nombreux pour l'instant, montrent donc une variation assez importante entre études.

Nous nous sommes également intéressées à la question dans le cadre d'un projet financé par le Bureau des Ressources Génétiques (BRG). Nous avons évalué le DL existant dans une core collection de riz sur 3 segments d'environ 1 Mb chacun situés sur le bras court du chromosome 6 et centrés sur trois gènes d'intérêt. Les résultats des analyses préliminaires montrent que, dans la core collection, le DL ne décroît que très lentement avec la distance en kb, indiquant un fort effet de la structure de l'espèce. Dans les sous-échantillons indica et japonica, en revanche, le DL n'est plus significatif au delà de 350 kb pour aucun des 3 gènes mais, pour deux d'entre eux, le DL semble diminuer plus lentement chez les indica que chez les japonicas (El Azhari et al, 2006; Seguin et al, 2006). Nous comptons maintenant comparer ces valeurs avec celles obtenues avec des marqueurs SNPs dans la même zone.

En se basant sur les valeurs obtenues dans ces quelques études, et sachant que chez le riz, une distance physique de 250 kb correspond, en moyenne, à une distance génétique de 1 cM, les études d'association devraient donc permettre de réduire nettement l'intervalle de confiance des QTLs - ce qui justifie le bien-fondé de cette approche - mais en restant toutefois *a priori* assez loin de la résolution atteinte chez le maïs.

Analyse du DL à l'échelle du génome entier

Les évaluations du DL chez le riz conduites jusqu'à présent concernent des zones réduites du génome, au mieux des bras de chromosomes. Or les études conduites sur d'autres espèces ont montré que le DL local variait beaucoup au sein d'une même espèce en fonction de la zone du génome considérée (Flint Garcia et al, 2003). Pour se faire une idée plus générale que l'image obtenue à partir d'un petit fragment de chromosome, l'analyse du DL à l'échelle du chromosome voire du génome entier peut être envisagée chez le riz. Deux bases de données regroupant chacune plusieurs centaines de milliers de SNPs issus de la comparaison des séquences de Nipponbare et de 93-11 sont, en effet, disponibles (Shen et al, 2004 ; Feltus et al, 2004).

Ceci a conduit le Cirad, en collaboration avec le Centre National de Génotypage (CNG) et l'IRRI à proposer une telle étude au GCP (projet Haploryza). Tirant bénéfice des possibilités de multiplexage à grande échelle offertes par le CNG, la matrice envisagée est de 900 individus x 1500 SNPs. Ces individus correspondent à la core collection utilisée dans l'étude "BRG" à laquelle s'ajoutent des variétés réputées posséder des caractères de résistance à la sécheresse, des intermédiaires indica x japonica de diverses origines et des accessions d'*O. rufipogon*, notamment indiennes et chinoises, afin d'avoir un point de référence sur la situation qui préexistait à la domestication. Les marqueurs SNP sont en cours de choix selon une maille régulière de 400 kb, avec un maillage plus fin (1 marqueur tous les 20kb) dans douze zones de 800 kb centrées sur des gènes intéressants.

Le projet Haploryza devrait permettre d'analyser le DL dans les régions ciblées, d'établir les haplotypes au niveau du génome entier, et de considérer l'utilisation qui peut être faite de cette information dans des études d'association. Une meilleure compréhension de l'organisation chromosomique réciproque des variétés indica et japonica et des raisons pour lesquelles il existe peu d'intermédiaires est également attendue.

Ce projet permettra, plus tard, de conduire des études d'association à l'échelle du génome entier avec un bon niveau de résolution pour les caractères mesurés dans tout ou partie de cette population, dont ceux de résistance à la sécheresse. Aranzana et al (2005) ont validé l'efficacité de cette approche en identifiant par ce biais des gènes connus chez

Arabidopsis, de même que Agrama et al (2007) chez le riz. L'approche pan-génomique est bien adaptée à une situation de DL fort, sous réserve que la collection de 900 accessions soit suffisamment diversifiée phénotypiquement pour se prêter à toutes les études et qu'elle comprenne un nombre suffisant de génotypes de chacun des groupes enzymatiques principaux pour pouvoir conduire des études intra-groupes si nécessaire.

Les problèmes liés à la structure des populations étudiées chez le riz

L'existence d'une forte structuration de l'espèce peut conduire à observer un DL élevé entre marqueurs non liés physiquement et induire de nombreux faux positifs dans les études d'association. C'est un risque important chez le riz du fait de l'existence des groupes indica et japonica presque complètement disjoints. Le choix de la population sur laquelle conduire l'étude d'association est donc déterminant. S'il est possible d'éliminer par échantillonnage les individus qui contribueraient fortement à la création d'un DL global ainsi que mis en oeuvre dans le logiciel DarWin (Perrier et al, 2003), soit d'en corriger l'effet par des approches statistiques utilisant comme co-variables les pourcentages d'appartenance aux différentes sous-populations identifiées (Pritchard et al, 2000), ces solutions risquent de ne pas être suffisantes chez le riz pour éliminer la structure indica / japonica. Dans ce cas, une approche intra-groupe représente une solution possible pour réduire de manière significative le DL de structure.

C'est la solution que nous avons adoptée pour les études d'associations entre polymorphisme au sein de gènes d'intérêt et variabilité phénotypique pour le cycle et la qualité de grain qui font l'objet du projet GABI-Génoplane. La population de riz choisie, issue du regroupement des collections de travail des sélectionneurs européens, était uniquement constituée de variétés de type japonica tempérées (Feyt et al, 1999). Malgré cette homogénéité génétique et un faible polymorphisme, les analyses de structure conduites avec des marqueurs microsatellites montrent que cette population est elle-même structurée en 4 groupes suffisamment différents pour présenter des différences significatives de phénotypes. Il est à craindre que, du fait de l'emboîtement des structures selon un système de poupées russes, l'échantillonnage seul ne permette pas de s'abstraire totalement des biais de structure. En revanche, le faible polymorphisme observé au niveau des marqueurs neutres s'est retrouvé au sein des gènes choisis. Alors que les comparaisons à grande échelle indica/japonica portant sur les zones codantes indiquent une fréquence de 3,5 SNP pour 1000 pb (Yu et al, 2005), plusieurs fragments des gènes travaillés n'en montrent aucun dans notre collection de 200 japonica tempérés.

Les analyses intra-groupes, si elles induisent moins de biais de structure, posent donc des problèmes spécifiques. Le choix de la population dans laquelle conduire des études d'association doit également être réfléchi à la lumière de ces premiers résultats.

D'autres éléments à prendre en compte dans les études d'association ciblées

Nous avons fait le choix, dans le projet GABI-Génoplane, de travailler sur des caractères simples de durée de cycle et de qualité de grain pour lesquels les gènes en cause sont relativement bien connus et séquencés chez plusieurs céréales et pour lesquels des données phénotypiques étaient disponibles ou pouvaient être acquises rapidement.

Les résultats préliminaires des tests d'association montrent que seuls les SNP d'un des quatre gènes étudiés sont significativement liés à la durée semis-épiaison. Or les gènes choisis correspondent indéniablement à des QTLs de durée de cycle chez le riz (Yano et al, 2000). La plupart des études de QTLs ont été conduites sur des croisements indica x japonica. Il est donc plausible que les allèles à ce gène soient fixés dans le groupe japonica et que d'autres gènes soient plus pertinents pour des analyses de variabilité intra-groupe. Là encore les

Stress hydrique

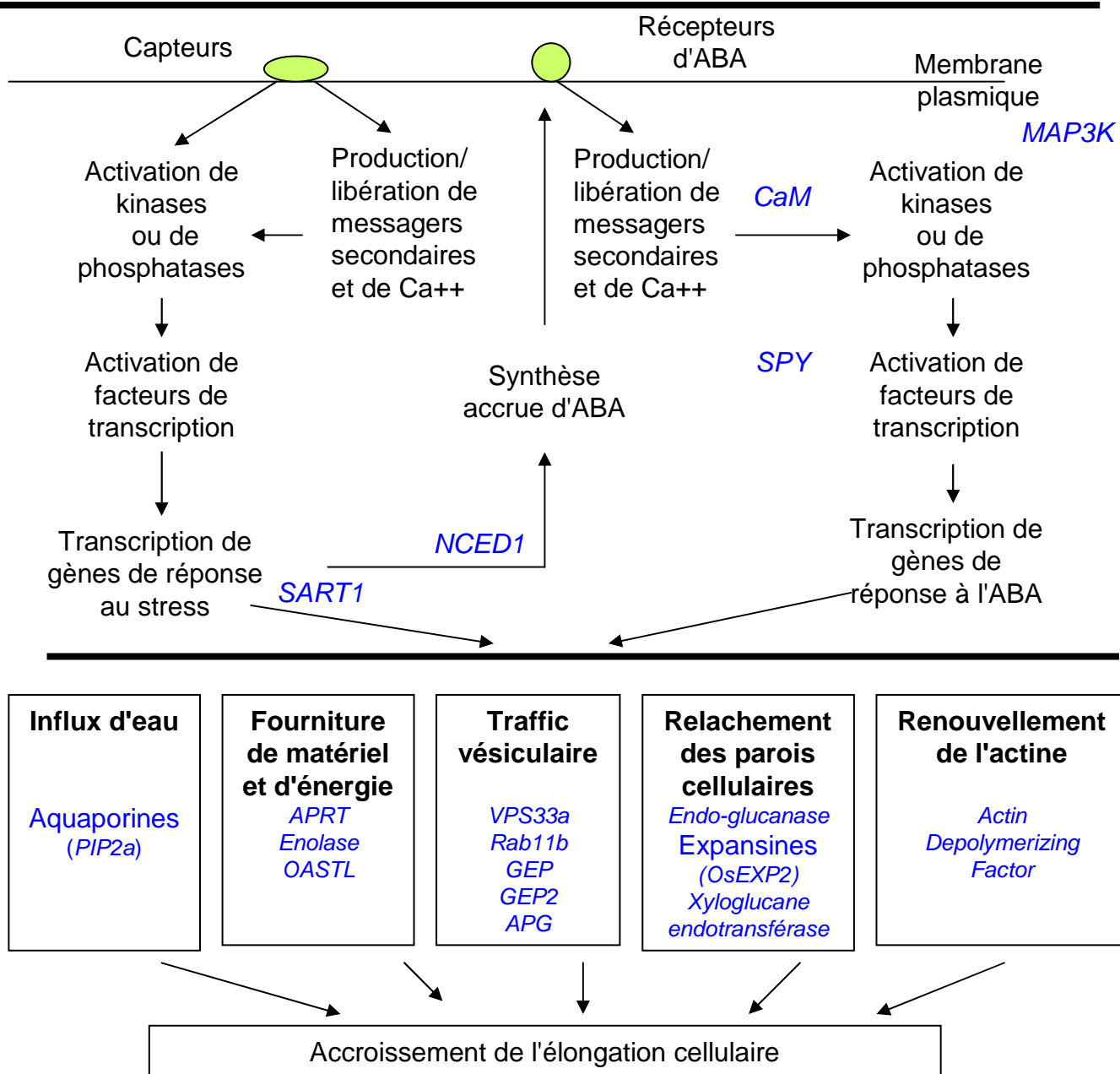


Figure 7: Un modèle simple d'élongation racinaire stimulée par un déficit hydrique établi à partir de donnée d'expression (Yang et al, 2003)

limites des études d'association intra-groupes dans une base génétique étroite apparaissent. Il semble donc indispensable de progresser également sur la compréhension du déterminisme génétique des caractères au sein de chaque groupe variétal, un domaine beaucoup moins exploré chez le riz que le polymorphisme inter-groupe.

Il est, de plus, possible que, pour trouver du polymorphisme fonctionnel, il vaille mieux ne pas se limiter aux séquences codantes. Il a ainsi été montré chez le maïs que l'origine des variations du phénotype provenait dans certains cas d'éléments régulateurs non codants parfois très éloignés du gène candidat. C'est ainsi que Salvi et al (2006) ont trouvé un polymorphisme significativement associé au phénotype à 70kb en amont du gène *vgt1*. La fréquence d'une telle situation reste à déterminer. Il a, en tout cas, été montré chez le riz que les variations à l'origine des différences de phénotypes peuvent également être localisées dans les séquences codantes (cas du gène *waxy*).

Enfin les études d'association ne permettent pas, pour des raisons statistiques, de prendre en compte les allèles de très faible fréquence. La puissance de test peut être améliorée par une augmentation de la taille de l'échantillon mais cette solution est coûteuse.

Vers des études d'association ciblées portant sur des gènes jouant un rôle dans la résistance à la sécheresse

Le projet GABI-Géno plante représente un premier exemple d'étude d'association. Il nous permet de cerner les problèmes méthodologiques qui peuvent se poser dans le cas d'une approche basée sur des gènes candidats.

Notre objectif est maintenant d'utiliser la même approche sur des gènes intervenant plus directement dans la résistance à la sécheresse du riz. Le choix des gènes sur lesquels travailler est bien entendu déterminant et doit reposer sur un faisceau convergent d'indices (données de la littérature, données d'expression, mutants, co-ségrégation avec des QTLs consensus, synténie, orthologie).

Dans le cadre d'un projet multi-espèces incluant le riz conduit par D. This (projet ADOC), nous avons décidé d'étudier des familles d'enzymes intervenant dans le métabolisme des sucres, notamment des invertases pariétales et vacuolaires, et des éléments régulateurs de la tolérance à la sécheresse (*ASR*) et de l'efficacité de l'eau (*ERECTA*). Le projet ADOC se focalise, dans un premier temps, sur un nombre de gènes réduit mais doit aboutir, à terme, à la constitution d'une base de données sur la variabilité allélique au sein de gènes jouant un rôle dans la tolérance à la sécheresse. L'étude de la diversité nucléotidique au sein des gènes étudiés permettra de rechercher les traces de sélection au sein des gènes et d'évaluer l'effet de la domestication sur l'adaptation du riz à des situations variées de contraintes hydriques comme proposé par Erhreich et Purugganan (2006)

Le même genre de projet peut donc être décliné sur d'autres types de gènes, en particulier des gènes intervenant dans la croissance racinaire en conditions normales ou sous stress hydrique.

Pour les conditions optimales, les orthologues des gènes constitutifs identifiés chez *A. thaliana* comme intervenant dans la formation des racines (initiation des organes et spécialisation des tissus) semblent des pistes intéressantes pour démarrer (Rebouillat, 2006 pour une revue), bien que la structure racinaire des dicotylédones et des monocotylédones soit assez différente. Un gène candidat prometteur issu de nos travaux de cartographie antérieurs appartient ainsi à la famille des PIN (efflux d'auxine), importante également chez *Arabidopsis*.

Pour les conditions de contrainte, le modèle très simple présenté ci-contre (Figure 7) donne des éléments sur les gènes qui peuvent être étudiés et qui recoupent bien ceux apparaissant comme importants dans la littérature (Lafitte et al, 2004, pour une synthèse). Le travail de génomique fonctionnelle conduit par C. Perrin dans l'équipe DAR qui cherche à

identifier de tels gènes par différentes approches dont l'étude de lignées d'insertion, pourra permettre d'ajouter des arguments en faveur de certains gènes ou de rallonger la liste des gènes si de nouveaux sont identifiés.

Un des défis à surmonter consistera à relier les résultats des études d'associations au niveau du gène avec les polymorphismes spécifiques de l'adaptation.

3. Clonage positionnel de QTLs de profondeur racinaire

Une autre approche génétique pour identifier les gènes sous-tendant les QTLs consiste à faire du clonage positionnel. La génétique recombinante n'est probablement pas toujours la méthode la plus rapide pour atteindre l'objectif mais c'est incontestablement la plus sûre.

Les premiers QTLs (*hd1*, *hd3a*, *hd6*) ont été clonés par Yano et al (2000) chez le riz en utilisant un jeu de lignées de substitution couvrant l'intégralité du génome. Ce jeu de lignées lui a permis d'attribuer avec certitude des QTLs à des segments d'une vingtaine de cM, intervalles qu'il a ensuite ramenés à quelques dixièmes de cM en utilisant une F₂ de 5000 plantes. L'équipe de Yano a commencé par des QTL de durée de cycle, pour lesquels le phénotypage est relativement facile. Les exemples récents de clonage de QTL de rendement (Ashikari et al, 2005) ou d'aptitude à la régénération en culture *in vitro* (Nishimura et al, 2005) par la même équipe montrent qu'il est possible d'utiliser la même approche sur des caractères plus complexes à phénotyper avec précision. Nous avons donc mis en place, avec N. Ahmadi, un programme de clonage positionnel de QTLs de profondeur racinaire, dont l'objectif est de cloner en parallèle un QTL de potentiel et un QTL inductible en réponse à un stress, afin de comparer la nature des gènes en cause.

Production de recombinants

En ce qui concerne le QTL de potentiel de profondeur racinaire, nous disposons au Cirad du jeu de 53 lignées quasi-isogéniques introgressées avec des QTLs de profondeur racinaire (NILs) issues du travail que nous avons conduit à l'IRRI (A16). Les 15 lignées introgressées avec le QTL du chromosome 9 constituent un bon point de départ pour le développement des nouvelles populations recombinantes nécessaires pour le clonage mais la taille du segment introgressé ne varie que très peu de lignée à lignée (Lenieff, résultats non publiés). Les lignées parentes ont donc été choisies plutôt sur la base des phénotypes observés en serre à l'IRRI et en conditions hydroponiques à Montpellier. Dans ce dernier essai, les lignées introgressées avec le QTL du chromosome 2 ont montré des différences de croissance avec la lignée récurrente beaucoup plus précoces que celles portant le QTL du chromosome 9 ce qui nous a conduit à utiliser l'une d'elle comme parent également. Les zones portant ces deux QTLs semblent dupliquées dans le génome du riz (http://www.tigr.org/tdb/e2k1/osa1/segmental_dup/100kb/)

Pour le QTL inductible en réponse au stress, nous partons de plus loin. Le contrôle génétique de la plasticité racinaire est en cours d'étude au Cirad dans le cadre du projet fédérateur Oryzon. La plasticité affecte notamment le rapport biomasse racinaire/biomasse aérienne. Des étudiants de DEA, sous le contrôle de D. Luquet et de N. Ahmadi ont effectué un travail préliminaire de détection de QTL en réponse à une carence en phosphore et un stress osmotique, supposés avoir un effet de déformation du système racinaire, travail qu'il faudra affiner maintenant qu'une carte de bonne qualité est disponible (Ahmadi et al, en préparation). Une analyse graphique permettra d'identifier les génotypes donneurs potentiellement les plus intéressants.

Pour les QTLs des chromosomes 2 et 9, les lignées les plus intéressantes sont en cours de croisement avec IR64 et de très grandes populations F₂ (~10 000 plantes) seront créées.

Ces F₂ seront cartographiées dans la zone introgressée avec quelques marqueurs microsatellites. Ces marqueurs permettront d'identifier les recombinants qui seront phénotypés de manière à réduire la taille du segment cible à quelques dixièmes de cM.

L'expérience du laboratoire dans le clonage positionnel d'un gène de résistance à la rouille chez la canne à sucre, qui montre l'intérêt de l'approche génétique, nous sera très utile. Par rapport à cette étude, nous possédons plusieurs avantages importants: nous avons affaire à un diploïde; le ratio distance physique sur distance génétique est raisonnable; des banques BAC de chacun des parents sont disponibles; le génome du riz a été intégralement séquencé. En revanche, le caractère cible est plus difficile à phénotyper avec précision.

Une analyse d'expression différentielle entre la lignée récurrente et la lignée introgressée en utilisant la puce Affymetrix du riz pourrait permettre de raccourcir le temps nécessaire à l'identification du gène en cause.

Mais la manipulation d'un ou de deux gènes ne constituera probablement pas une différence déterminante pour un caractère faiblement héritable en conditions de champ. Il sera, en parallèle, nécessaire d'identifier, en collaboration avec l'équipe DAR, d'autres gènes jouant un rôle dans le développement racinaire parmi lesquels il faudra établir ceux qui sont responsables de la diversité phénotypique de l'espèce et qui sont les seuls utilisables en sélection.

Des méthodes efficaces de phénotypage à définir

Pour le clonage positionnel plus encore que pour les études d'association, se pose le problème du phénotypage d'un caractère fort peu héritable. Les techniques de phénotypage qui seront utilisées dans ce projet doivent être performantes car nous voulons pouvoir mettre en évidence des différences dues à un QTL unique et donc de l'ordre de 10 % tout au plus. Il est donc nécessaire de mettre au point une technique de tri moins lourde que la technique en pot utilisée pour le développement des NILs, inapplicable à de très grands effectifs. Les lignées introgressées ont récemment été évaluées en utilisant une méthode hydroponique. La gamme de variation d'expression est alors plus réduite qu'en tube, comme déjà observé par Price et Tomos (1997), mais la technique est néanmoins utilisable assez facilement. D'autres méthodes développées par C. Périn sont à l'étude, ainsi que de nouveaux types de substrats, faciles à séparer des racines (O19). Il reste à démontrer que ces techniques donnent des résultats comparables à celle utilisée lors de la détection des QTLs initiaux.

Perspectives à plus long terme

L'identification des gènes en cause ne sera également qu'une étape intermédiaire avant de s'intéresser à leur diversité allélique puis à leur fonctionnement concerté. Pour un caractère et un environnement donnés, la combinaison des allèles les plus efficaces dans des variétés d'élite sera à son tour un défi intéressant, sachant qu'il sera très vite nécessaire de pouvoir manipuler de nombreux gènes à la fois. De telles méthodes commencent à être développées dans des programmes de construction de génotypes (Hospital et Charcosset, 1997; Servin et al, 2004; Crépieux et al, 2005; Frisch et Melchinger, 2005; Ribaut et Ragot, 2007) ou de sélection récurrente (Hospital et al, 1997; Hospital et al, 2000; Charmet et al, 2001). Le choix de l'une ou l'autre méthode dépend des objectifs (progrès génétique à court ou long terme), du caractère, de son héritabilité, du nombre de gènes en cause, du pourcentage de variance qu'ils expliquent, et de la valeur relative des parents qui possèdent les allèles favorables (Blanc, 2006).

Parce que les programmes de création variétale du Cirad sur le riz visent l'amélioration de caractères complexes (productivité, qualité, ou adaptation aux contraintes abiotiques),

l'amélioration des populations par sélection récurrente constitue, à l'heure actuelle, le principal schéma de sélection de ces programmes. Un système monogénique récessif de stérilité mâle permet de s'abstraire des contraintes liées à l'autogamie du riz. Un projet visant à l'amélioration de la tolérance à la sécheresse et l'efficacité de l'utilisation de l'eau par sélection récurrente est en cours de montage en collaboration avec le CIAT, en Colombie. Dans ce contexte, les recherches porteront sur les modalités d'optimisation du schéma d'amélioration de la population qui assurent l'accumulation des allèles favorables aux quelques dizaines de loci cibles sans réduire trop rapidement la diversité aux loci non cibles, tout en étant compatible avec les procédures complémentaires de sélection sur phénotype.

Comme un rendement final peut s'obtenir de nombreuses manières, le choix des combinaisons caractères x gènes x allèles assurant une bonne stabilité du rendement dans les environnements cibles devra probablement faire appel, en parallèle, à des outils de simulation associant paramètres génétiques, physiologiques et environnementaux dérivés (Hammer et al, 2004; Luquet et al, 2006; O19).

Références citées dans le document

- Agrama HA, Eizenga GC, Yan W (2007) Association mapping of yield and its components in rice cultivars. *Mol Breeding* 19:341-356
- Ahmadi N, Courtois B, Shen L, Ghesquière A (2002) Efficiency of marker-assisted selection in rice. In: Rice genetic resources and breeding for Europe and other temperate areas. Proc. Eurorice 2001 Symposium, Krasnodar, Russie.
- Ali ML, Pathan MS, Zhang J, Bai G, Sarkarung S, Nguyen HT (2000) Mapping QTLs for root traits in a recombinant inbred population from two indica ecotypes in rice. *Theor Appl Genet* 101:756-766.
- Aranzana MJ, Lim S, Zhao K, Bakker E, Horton M, Jakob K, Lister C, Molitor J, Shindo C, Tang C, Toomajan C, Traw B, Zheng H, Bergelson J, Dean C, Marjoram P, Nordborg M (2005) Genome-wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes. *PLoS Genetics*, 1(5): 1-9
- Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, Angeles ER, Qian Q, Kitano H, Matsuoka M (2005) Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science*, 309:741-745.
- Benfey PN, Scheres B (2000) Root development. *Curr Biol* 10:R813-R815
- Birnbaum K, Sasha DE, Wang JY, Jung JW, Lambert GM, Galbraith DW, Benfey PN (2003) A gene expression map of the *Arabidopsis* root. *Science* 302:1956-1960.
- Blanc G (2006) Sélection assistée par marqueurs dans un dispositif multiparental connecté. Application au maïs et approche par simulations. Thèse INA PG. 150 p.
- Blum A, Sullivan CY (1986) The comparative drought resistance of landraces of sorghum and millet from dry and humid regions. *Annals of Botany* 57:835-846.
- Camus-Kulandaivelu L, Veyrieras JB, Madur D, Combes V, Fourmann M, Barraud S, Dubreuil P, Gouesnard B, Manicacci D, Charcosset A (2006) Maize adaptation to temperate climate: relationship between population structure and polymorphism in the *Dwarf8* gene. *Genetics*, 172: 2449-2463.
- Champoux MC, Wang G, Sarkarung S, Mackill DJ, O'Toole JC, Huang N, McCouch S (1995) Locating genes associated with root morphology and drought avoidance in rice via linkage to molecular markers. *Theor Appl Genet* 90: 969-981.
- Chardon F, Virlon B, Moreau L, Falque M, Joets J, Decousset L, Murigneux A, Charcosset A. 2004. Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics* 168:2169-2185.
- Charmet G, Robert N, Perretant MR, Gay G, Sourdille P, Groos C, Bernard S, Bernard M (2001) Marker-assisted recurrent selection for cumulating QTLs for bread-making related traits. *Euphytica*, 119:89-93.
- Cooper M, DeLacy IH, Basford KE (1996) Relationships among analytical methods used to analyse genotypic adaptation in multi-environment trials. In: Cooper M and Hammer GL (Eds), Plant adaptation and crop improvement, pp.193-224. CAB International, IRRI & ICRISAT, Oxford, UK.
- Courtois B (2007) Une brève histoire de l'amélioration génétique du riz. Cirad, France, 13 p. <http://tropgenedb.cirad.fr/rice/AmeliorationGenetiqueRiz.pdf>
- Courtois B, Chaitep W, Moolsri S, Sinha PK, Trebuil G, Yadav R (1996) Drought resistance and germplasm improvement. On-going research in the Upland Rice Research Consortium. In: Upland Rice Research in Partnership [Eds. C Piggins, B Courtois, V Schmit], IRRI, Los Baños, Philippines, IRRI Discussion paper Series 16: 154-175.
- Crepieux S, Lebreton C, Flament P, Charmet G (2005) Application of a new IBD-based mapping method to common wheat breeding population: analysis of kernel hardness and dough strength. *Theor Appl Genet* 111:1409-1419
- Cushman JC, Bohnert HJ (2001) Genomic approach to plant stress tolerance. *Curr Opin Plant Biol* 3:117-124.
- Dingkuhn M, Luquet D, Kim HK, Tambour L, Clément-Vidal A (2006) EcoMeristem, a model of morphogenesis and competition among sinks in rice: 2. Simulating genotype responses to phosphorus deficiency. *Functional Plant Biology* 33:325-337.
- El Azhari N, Pomiès V, Billot C, Deu M, Courtois B (2006) Linkage disequilibrium on the short arm of rice chromosome 6. Poster presented at Plant Genome XIV, San Diego, USA.
- Ehrenreich I, Purugganan MD (2006) The molecular basis of plant adaptation. *Am J Bot* 93(7):953-962.
- Feltus FA, Wan J, Schulze SR, Estill JC, Jiang N, Paterson AH (2004) An SNP resource for rice genetics and breeding based on subspecies indica and japonica genome alignments. *Genome Res* 14: 1812-1819
- Feyt H, Clément G, Aguilar Portero M, Ballesteros R, Martins da Silva L, Ntanos D, Russo S, del Mar Catala M, Mazzini F, Gozé E (2002) Agronomical, morphological, and technological traits of 430 genotypes from European rice genetic resources collections: mean value and genotype x environment interactions. In : Rice genetic resources and breeding for Europe and other temperate areas. Proc. Eurorice 2001 Symp. Cirad- Ird-Ksau-Vniirisa, 3-9 September 2001, Krasnodar, Russia. Editions CIRAD, Montpellier.

- Flint-Garcia SA, Thornsberry JM, Buckler ES (2003) Structure of linkage disequilibrium in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 357-374.
- Frisch M, Melchinger AE (2005) Selection theory for marker-assisted backcrossing. *Genetics* 170:909-917
- Fukai S, Cooper M. 1995. Development of drought resistant cultivars using physio-morphological traits in rice. *Field Crops Res.* 40:67-87
- Garris AJ, McCouch SR, Kresovich S (2003) Population structure and its effect on haplotype diversity and linkage disequilibrium surrounding the *xa5* locus of rice (*Oryza sativa* L.). *Genetics* 165: 759-769
- Gibson G, Weir B (2005) The quantitative genetics of transcription. *Trends in Genetics* 21:616-623.
- Glaszmann J-C (1986) Linkage disequilibrium between Est-2 and Amp-3 among rice cultivars. *Rice Genetics Newsletter* 6: 65-67
- Glazier AM, Nadeau JH, Altman TJ (2002) Finding genes that underlie complex traits. *Science* 2987: 2345-2349
- Goffinet B, Gerber S (2000) Quantitative trait loci: a meta-analysis. *Genetics* 155:463-473
- Guiderdoni E, Gallinato E, Luistro J, Vergara G (1992) Anther culture of tropical japonica x indica hybrids of rice. *Euphytica* 62:219-224
- Guo B, Sleper DA, Lu P, Shannon JG, Nguyen HT, Arelli PR. 2006. QTLs associated with resistance to soybean cyst nematode in soybean: meta-analysis of QTL locations. *Crop Science* 46:595-602
- Gupta PK, Rustgi S, Kulwal PL (2005) Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Mol Biol* 57:461-485
- Hagenblad J, Nordborg M (2002) Sequence variation and haplotype structure surrounding the flowering time locus *FRI* in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 161: 289-298.
- Hammer G, Chapman S, van Oosterom E, Podlich D (2004) Trait physiology and crop modelling to link phenotypic complexity to underlying genetic systems. In: *New directions for a diverse planet, 4th Int Crop Sci Congress, Brisbane, Australia, 1-15*
- Hemamalini GS, Shashidhar HE, Hittalmani S (2000) Molecular marker assisted tagging of morphological and physiological traits under two contrasting moisture regimens at peak vegetative stage in rice. *Euphytica* 112, 69-78.
- Hittalmani S, Parco A, Mew T, Zeigler RS, Huang N (2000) Fine mapping and marker-assisted pyramiding of major genes for blast resistance in rice. *Theor Appl Genet* 100:1025-1042
- Hospital F, Charcosset A (1997) Marker-assisted introgression of quantitative trait loci. *Genetics* 147:1469-1485
- Hospital F, Moreau L, Lacoudre F, Charcosset A (1997) More on efficiency of marker-assisted selection. *Theor Appl Genet* 95:1181-1189
- Hospital F, Goldringer I, Openshaw S (2000) Efficient marker-based recurrent selection for multiple quantitative trait loci. *Genet Res* 75:357-368
- Huang N, McCouch S, Mew T, Parco A, Guiderdoni E (1994) Development of an RFLP map from a doubled haploid population in rice. *Rice Genet Newsl* 11: 134-137
- Huang N, Angeles ER, Domingo J, Magpantay G, Singh S, Zhang G, Kumaravadivel N, Bennett J, Khush GS (1997) Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. *Theor Appl Genet* 95:313-320
- Ingram J, Bartels D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47:377-403
- Inukai T, Zeigler RS, Sarkarung S, Bronson M, Dung LV, Kinoshita T, Nelson RJ (1996) Development of near-isogenic lines for rice blast resistance by marker-aided selection from a recombinant inbred population. *Theor Appl Genet* 93:560-567
- Kamoshita A, Wade LJ, Ali ML, Patahn MS, Zhang JX, Sarkarung S, Nguyen HT (2002a) Mapping QTL for root morphology of a rice population adapted to rainfed lowland conditions. *Theor Appl Genet* 104:880-893
- Kamoshita A, Zhang JX, Siopongco S, Sarkarung S, Nguyen HT, Wade LJ (2002b) Effect of phenotyping environments on identification of QTLs for gross root morphology of rice under anaerobic conditions. *Crop Science* 42:255-265
- Lafitte RH, Champoux MC, McLaren G, O'Toole JC (2001) Rice root morphological traits are related to isozyme groups and adaptation. *Field Crop Research* 71:57-70
- Lafitte RH, Ismail A, Bennet J (2004) Abiotic stress tolerance in rice for Asia: progress and future. In: *New directions for a diverse planet. Proc. of the 4th International Crop Science Congress, 26 Sept-1 Oct, Brisbane, Australia*
- Lanceras JC, Pantuwan G, Jongdee B, Toojinda T (2004) Quantitative trait loci associated with drought tolerance at reproductive stage. *Plant Physiol* 135: 384-399
- Lilley JM, Ludlow MM (1996) Expression of osmotic adjustment and dehydration tolerance in diverse rice lines. *Field Crop Res* 48:185-197
- Lilley JM, Ludlow MM, McCouch SR, O'Toole JC (1996) Locating QTL for osmotic adjustment and dehydration tolerance in rice. *J Exp Bot* 47 (302):12474-1436

- Li RM, Lyons A, Wittenburg H, Paigen B, Churchill GA (2005) Combining data from multiple inbred line crosses improves the power and resolution of QTL mapping. *Genetics* 169:1699-1709
- Liu L, Lafitte R, Guan D (2004) Wild *Oryza* species as potential sources of drought-adaptive traits. *Euphytica* 138(2): 149-161
- Ludlow MM, Muchow RC (1990) A critical evaluation of traits for improving crop yield in water-limited environments. *Adv. Agron.* 43:107-153.
- Luquet D, Dingkuhn M, Kim H, Tambour L, Clément-Vidal A (2006) EcoMeristem, a model of morphogenesis and competition among sinks in rice. 1. Concept, validation and sensitivity analysis. *Functional Plant Biology*, 33:309-323
- Mackay TFC (2004) The genetic architecture of quantitative traits: lessons from *Drosophila*. *Current Opinion on Genetics and Development*, 14:253-257
- McCouch S, Guiderdoni E, Courtois B, Tanksley SD (1989) Evaluation of an anther culture- derived doubled haploid population for RFLP mapping. Third Rockefeller Meeting on Rice Biotechnologies, 10-13 March 1989, St Louis, Missouri, USA
- Nishimura A, Ashikari M, Lin S, Takashi T, Angeles ER, Yamamoto T, Matsuoka (2005) Isolation of a rice regeneration quantitative trait locus gene and its application to transformation systems. *PNAS*, 102:33: 11940-11944
- Olsen KM, Caicedo AL, Polato N, McClung A, McCouch S, Purugganan MD (2006) Selection under domestication: evidence for a sweep in the rice waxy genomic region. *Genetics* 173:975-983
- O'Toole JC, Bland WL (1987) Genotypic variation in crop plant root systems. *Advances in Agronomy*, 41:91-145
- Pandey S (1996) Socio-economic context and priorities for strategic research on Asian upland rice ecosystems. In: *Upland Rice Research in Partnership* [Eds. C Piggin, B Courtois, V Schmit], IRRI, Los Baños, Philippines, IRRI Discussion paper Series 16: 154-175
- Passioura J (2007) The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives. *J Exp Botany* 58(2): 113-117
- Périn C, Breitel JC, Diévert A, Gantet P, Courtois B, Ahmadi N, de Raissac M, This D, Le QH, Brasileiro AMC, Meynard D, Verdeil JL, Guiderdoni E (2005) Novel insights in rice root adaptive development. In: *5th International Rice Genetics Symposium*, 19-23 November 2005, Manila, Philippines.
- Perrier X, Flori A, Bonnot F (2003) Data analysis methods. In: *Genetic diversity of cultivated tropical plants*. [Eds Hamon P, Seguin M, Perrier X, Glaszmann J-C.], Enfield, Science Publishers. Montpellier. p 43-76.
- Pingali P (1997) From subsistence to commercial production systems: the transformation of Asian agriculture. *Am J Agric Econ* 79:628-634.
- Price AH, Steele KA, Moore BJ, Barraclough PB, Clark LJ (2000) A combined RFLP and AFLP linkage map of upland rice used to identify QTLs for root penetration ability. *Theor Appl Genet* 100:49-56
- Price AH, Steele KA, Moore BJ, Jones R.GW (2002) Upland rice grown in soil-filled chambers and exposed to contrasting water-deficit regimes. II. Mapping QTL for root morphology and distribution. *Field Crop Res* 76: 25–431
- Price AH, Tomos AD (1997) Genetic dissection of root growth in rice. II. Mapping quantitative trait loci using molecular markers. *Theor Appl Genet*, 95:143-152.
- Pritchard JK, Stephens M, Rosenberg NA, Donnelly P (2000) Association mapping in structured populations. *Am J Hum Genet* 67: 170-181.
- Ray JD, Yu L, McCouch SR, Champoux MC, Wang G, Nguyen HT(1996) Mapping QTL associated with root penetration ability in rice. *Theor Appl Genet*, 92:627-636.
- Rebouillat J (2006) Etude cellulaire et moléculaire du développement racinaire chez le riz (*O. sativa* L. cv Nipponbare): criblage et caractérisation d'une collection de lignées d'insertion enhancer trap gal4-uas-gfp. Thèse de 3^{ème} cycle, Université de Montpellier II, 98 p.
- Reddy AR, Ramakrishna W, Sekhar AC, Ithal N, Babu PR, Bonaldo MF, Soares MB, Bennetzen JL (2002) Novel genes are enriched in normalized cDNA libraries from drought-stressed seedlings of rice (*Oryza sativa* L. subsp. indica cv. Nagina 22). *Genome* 45:204-211.
- Remington DL, Thornsberry JM, Matsuoka Y, Wilson LM, Whitt SR, Doebley J, Kresovich S, Goodman MM, Buckler ES (2001) Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proc Natl Acad Sci* 20: 11479-11484.
- Ribaut J-M, Ragot M (2007) Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations and alternatives. *J Exp Bot* 58(2):351-360.
- Romagosa I, Ullrich SE, Han F, Hayes PM (1995) Use of the additive main effects and multiplicative interaction model in QTL mapping for adaptation in barley. *Theor. Appl. Genet.* 93:30-37.
- Salvi S, Tuberosa R (2005) To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. *Trends in Plant Science*, 10(6):297-304.

- Salvi S, Sponza G, Morgante M, Tomes D, Tuberosa R (2006) Confirmation of the maize flowering time QTL *vtg1* by association mapping. Plant and Animal Genomes XIV Conference, Workshop on QTL cloning.
- Seguin M, Attard A, Bataillon T, Billot C, Cenci A, Chantret N, **Courtois B**, David J, Deu M, El Azhari N, Glaszmann JC, Glemin S, Haudry A, Le Guen V, Maynadier M, Ronfort J, Tsitronne A, Pomiès V, Weber (2006) Analyse et prédiction des patrons de déséquilibre de liaison dans les collections de ressources génétiques de plantes pérennes ou annuelles, autogames ou allogames. In: Actes du colloque du BRG, 2-4 octobre, La Rochelle, France.
- Semon M, Nielsen R, Jone MP, McCouch S (2005) The population structure of African cultivated rice *Oryza glaberrima*. Evidence of elevated levels of linkage disequilibrium caused by admixture with *O. sativa* and ecological adaptation. *Genetics*, 169:1639-1647
- Servin B, Martin OC, Mezard M, Hospital F (2004) Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding. *Genetics* 168:513-523
- Shen YJ, Jiang H, Jin JP, Zhang ZB, Xi B, He YY, Wang G, Wang C, Qian L, Li X, Yu QB, Liu HJ, Chen DH, Gao JH, Huang H, Shi TL, Yang ZN (2004) Development of genome-wide DNA polymorphism database for map-based cloning of rice genes. *Plant Physiol*, 135: 1198-1205
- Steele KA, Price AH, Sashidhar HE, Witcombe JR (2006) Marker-assisted selection to introgress rice QTLs controlling root traits into an Indian upland rice variety. *Theor Appl Genet* 112:208-221
- Tanksley SD, McCouch SR (1997) Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. *Science* 277:1063-1066
- Tanksley SD, Nelson JC (1996) Advanced back-cross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. *Theor Appl Genet* 92:191-203
- Tenaillon MI, Sawkins MC, Long AD, Gaut RL, Doebley JF (2001) Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:9161-9166
- Thornsberry JM, Goodman MJ, Doebley J, Kresovich S, Nielsen D, Buckler ED (2001) Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nature genetics* 28: 286-289
- Trebuil G, Hossain M (2004) Le riz. Enjeux écologiques et économiques. Belin, Paris, France. 265 p
- Veyrieras JB, Goffinet B, Charcosset A (2007) Meta QTL: a package of new computational methods for the meta-analysis of QTL mapping experiments. *BMC Bioinformatics* 8:49
- Wilson LM, Whitt SR, Ibanez AM, Rocheford TR, Goodman MM (2004) Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association. *The Plant Cell* 16:2719-2733
- Yang L, Zheng B, Mao C, Yi K, Liu F, Wu Y, Tao Q, Wu P (2003) cDNA-AFLP analysis of inducible gene expression in rice seminal root tips under a water deficit. *Gene* 314:141-148
- Yano M, Katayose Y, Ashikari M, Yamanouchi U, Monna L, Fuse T, Baba T, Yamamoto K, Umehara Y, Nagamura Y, Sasaki T (2000) *Hdl*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. *The Plant cell* 12:2473-2484
- Yu J, Wang J, Lin W, Li S, Li H et al (2005) The genomes of *Oryza sativa*: a history of duplications. *PLoS Biol* 3(2):e38
- Yue B, Xiong L, Xue W, Xing Y, Luo L, Xu C (2005) Genetic analysis for drought resistance of rice at reproductive stage in field with different types of soil. *Theor Appl Genet* 111: 1127-1136
- Zhang J, Zjeng HG, Aarti A, Pantuwan G, Nguyen TT, Tripathy JN, Sarail AK, Robin S, Babu RC, Nguyen BD, Sarkarung S, Blum A, Nguyen HT (2001) Locating genomic regions associated with component of drought resistance in rice: comparative mapping within and across species. *Theor Appl Genet* 103:19-219
- Zhang WP, Shen XY, Wu P, Hu B, Liao CY (2001) QTLs and epistasis for seminal root length under a different water supply in rice. *Theor Appl Genet* 103:118-123
- Zheng BS, Yang L, Zhang WP, Mao CZ, Wu YR, Yi KK, Liu FY, Wu P (2003) Mapping QTLs and candidate genes for rice root traits under different water supply conditions and comparative analysis across three populations. *Theor Appl Genet* 107:1505-1515