
**IDENTIFICATION CHEZ LE RIZ (*ORYZA SATIVA*) DE NOUVEAUX
QTLS POUR LA TOLERANCE A LA SALINITE DANS UNE
POPULATION F2 ISSUE DU CROISEMENT SAHEL 108 X HASAWI**

NOTE AUX LECTEURS

Ce document a été numérisé et mis en ligne par la Bibliothèque Centrale de l'Université Cheikh Anta DIOP de DAKAR



Bibliothèque Centrale UCAD

Site Web: www.bu.ucad.sn

Mail: bu@ucad.edu.sn

Tél: +221 33 824 69 81

BP 2006, Dakar Fann - Sénégal

DEDICACES

Ce travail est dédié à toutes les personnes qui m'ont aidée dans ma vie, particulièrement à mon père Ndiassé Thiam, à ma mère Ndèye Faty Thiam pour leur amour et leur soutien, à mes frères et sœurs, à mon défunt oncle cheikh Ngourane Thiam et à monsieur Madiop Bitèye qui a beaucoup fait pour moi.

REMERCIEMENTS

D'abord, je rends grâce au bon Dieu qui m'a permis de vivre et qui m'a donné la santé pour faire ce travail ; je prie aussi sur son prophète Mouhamed (PSL).

Je remercie très sincèrement mes parents surtout pour l'éducation qu'ils m'ont donné leur amour leur soutien moral et financier, je vous remercie pas assez chers parents.

Je remercie très sincèrement tous les professeurs de la faculté des sciences et techniques, et particulièrement le professeur Ibrahima NDOYE, microbiologiste et le professeur Diaga DIOUF, biologiste moléculaire pour l'encadrement, son soutien et sa disponibilité.

Je remercie du fond du cœur mon encadreur, le Dr Kofi BIMPONG, biologiste moléculaire, pour son soutien, sa rigueur et sa disponibilité, ainsi que le Dr Baboucar MANNEH sélectionneur, et le Dr Raafat EL-NAMAKY.

Mes remerciements s'adressent aussi à tout le personnel du laboratoire de biologie moléculaire notamment à Bathé DIOP et Faty DIAW, techniciennes de recherche, et à Anta GUEYE, aide laborantin.

Je remercie aussi M. Ghislain KANFANY, assistant de recherche, Bakary SANNEH, Francis YAO, Pape BA, Ousmane FALL, Cheikh FALL, Daba, Amadou GUEYE ainsi que tous les ouvriers d'Africarice.

Je remercie mon défunt oncle, cheikh Ngourane THIAM, une personne qui m'a beaucoup aidée durant mon cursus : paix à son âme.

Je ne remercierai jamais assez Madiop BITEYE, un frère qui m'a soutenue financièrement et moralement.

Mes remerciements vont à tous les membres de ma famille : mes frères et sœurs, mes cousins mes tantes et oncles.

Je remercie aussi toutes mes amies qui sont à Fann hock, à Saint-Louis et à Darou Mousty.

Je remercie aussi tous mes camarades de promotion.

Enfin, il m'est agréable d'exprimer mes remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidée dans l'élaboration et la réalisation de ce travail.

TITRE: Identification Chez le Riz (*Oryza sativa*) de nouveaux QTLs pour la tolérance à la salinité dans une population F2 issue du croisement Sahel 108 x Hasawi

Prénom et Nom : Maïmouna THIAM

Nature du mémoire: Master en Biotechnologies Végétales et Microbiennes

Présenté et soutenu le 17 Mai 2013

Président : Dr. Ibrahima	NDOYE	Professeur Titulaire	UCAD
Membres : Dr. Kofi	BIMPONG	Chercheur	AfricaRice
Dr. Diaga	DIOUF	Professeur Titulaire	UCAD
Dr. François Abaye	BADIANE	Assistant	UCAD

Directeur de Recherches: M. Diaga DIOUF
Co-Directeur: M. Kofi BIMPONG

RÉSUMÉ

Le riz est une céréale importante et stable pour le Sénégal. Mais sa production est limitée par plusieurs contraintes comme la salinité, d'où la nécessité de créer de nouvelles variétés pour remédier à ce problème. L'étude de la diversité allélique a été réalisée sur 31 variétés différentes cultivées en Afrique, en utilisant 70 marqueurs SSR sur une population F2 de 154 individus issus de sahel 108, un parent récurrent et Hasawi, un nouveau donneur. Au total, 17 QTLs sont détectés en condition de non stress et 15 QTLs en condition de stress. Les QTLs identifiés sont associés aux traits agronomiques comme la hauteur à maturité, le nombre de talles, le nombre de panicules par m² et le pourcentage de fertilité des panicules. Ces QTLs sont regroupés sur les chromosomes 1, 2, 7,10 et 11 et seront utiles en sélection assistée par marqueurs.

Mots-clés : Riz (*Oryza sativa*), tolérance à la salinité, SSR, QTLs, diversité allélique.

ABSTRACT

Rice is an important staple crop for Senegal but its productivity is limited by many constraints including salinity. For this purpose, there is a need to develop new varieties to address this problem. In this study, allelic diversity was conducted using 31 different varieties grown in Africa. Three different groups were observed using SSR markers. QTL analysis with 70 polymorphic SSR markers using 154 F₂ population resulting from a cross where Sahel 108 was used as a recurrent parent and Hasawi as a donor. Our results revealed 17 QTLs in non-saline condition and 15 QTLs for the saline conditions. The QTLs identified had significant effect on some agronomic traits such as plant height at maturity, number of tillers, number of panicles per meter square and percent fertile panicles. The QTLs identified were clustered on chromosomes 1, 2, 7, 10 and 11. These QTLs may be useful in conducting marker assisted selection in future.

Keywords: Rice (*Oryza sativa*), salt tolerance, SSR, QTLs, allelic diversity

Listes des sigles et abréviations

ABA : acide abscissique

ADN: acide désoxyribonucléique

AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism

APS: Ammonium persulfate

CIM: composite interval mapping

cM: centimorgan

CTAB: CetylTrimethyl Ammonium Bromide

EC: conductivité électrique

FAO: Food and Agriculture Organization

IRRI: International Rice Research Institute

LOD: Logarithm of the odds

Pb: paire de bases

PCR : polymerase chain reaction

QTL : quantitatif trait loci

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

SES: système d'évaluation standard

SIM: simple interval mapping

SSR: Simple Sequence Repeat

TAE: Tris acetate EDTA

TBE: Tris Borate EDTA

TE: Tris EDTA

TEMED: N, N, N'N'-Tétramethylenediamine

SOMMAIRE

Introduction	1
Etude bibliographique	2
1. Présentation de la plante.....	4
1.1. Systématique.....	4
1.2. Le Génome du riz	4
1.3. Morphologie	4
2. Cycle de développement	6
2.1 La phase végétative	6
2.2. La phase reproductive.....	6
2.3 La phase de maturation.....	6
3. La production et l'importance du riz	6
4. Ecologie du riz.....	7
5. la salinisation.....	7
5.1. Les Causes de la salinité.....	7
5.2 Les conséquences de la salinité sur le riz	8
5.3 Les mécanismes de tolérance à la salinité	8
5.4. Salinisation des terres dans le monde	10
5.5. Les solutions pour la salinité	10
6. Détection de QTLs associés à la salinité chez le riz	10
6.1. Les loci de caractères quantitatifs.....	10
6.2. Les marqueurs moléculaires	11
6.3. Méthodes de détection de QTL	12
Matériel et méthodes	13
1. Matériel végétal.....	15
2. Culture des plantes au champ.....	15
3. Culture des plantes au laboratoire	15
4. Analyse moléculaire.....	15
4.1. Extraction de l'ADN.....	15
4.2. Amplification de l'ADN.....	16
4.3. Electrophorèse et visualisation des amplifiats.....	16
5. Analyse des liaisons	16

6. Analyse des relations phylogénétiques	16
Résultats	18
1. Etude de la Diversité allélique	20
2. Relation phylogénétique entre génotypes	20
3. Analyses des données phénotypiques	20
3.1. Comparaison des traits phénotypiques	20
2.2. Corrélacion entre les traits.....	24
2.3. Identification des QTLs	26
Discussion	32
Conclusion et Perspectives	35
Références bibliographiques	37
Annexe	43

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le riz est la deuxième céréale alimentaire produite dans le monde, et la première céréale pour l'alimentation avec un rendement moyen de 4,0 t/ha (Courtois *et al.*, 2007). En effet, il représente la base de l'alimentation humaine pour 2,5 milliards de personnes dans les pays en voie de développement, avec des consommations annuelles très importantes dépassant, dans certains pays, 100kg/habitant. L'Asie domine l'économie du riz avec 90% des surfaces et de la production qui y sont concentrées. L'Amérique latine et l'Afrique se partagent les 10 % restants. Le marché du riz est très étroit car la quasi-totalité est consommée sur place et seuls 6% de la production totale sont commercialisés (FAO, 2010). Les principaux pays exportateurs sont les Etats-Unis, la Thaïlande et le Vietnam. Quant aux principaux importateurs, on peut noter les Philippines, le Mexique et l'Afrique qui couvre à peine plus de 10% de ses besoins et absorbe le tiers des importations mondiales. Malgré son importance, l'économie du riz est confrontée à un certains nombres de problèmes du fait d'une production qui augmente moins vite que la consommation, des surfaces agricoles qui stagnent et des rendements qui progressent moins vite que lors des décennies précédentes. A cela s'ajoutent des problèmes abiotiques et biotiques- dont le plus commun est la salinité- qui limitent la production. La salinité est l'une des principales préoccupations du centre Africarice car elle constitue un problème majeur dans le delta du fleuve Sénégal, principale zone de production rizicole. Cette situation a amené les sélectionneurs d'Africarice à réaliser des croisements pour développer de nouvelles variétés tolérantes à la salinité et adaptées aux conditions agro-écologiques locales.

La tolérance à la salinité est un caractère quantitatif complexe contrôlée par de nombreux gènes (Shanon 1985 ; Yeo et Flowesr 1986 ; Singh *et al.*, 2001). Ainsi, l'utilisation de la sélection conventionnelle pour la tolérance à la salinité n'est pas facile à cause des effets environnementaux importants et de la faible héritabilité de la tolérance au sel (Gregorio et Senadhira, 1993 ; Gregorio *et al.*, 2002). De ce fait, pour créer de nouvelles variétés avec un niveau élevé de tolérance à la salinité, il faut nécessairement comprendre les mécanismes qui contrôlent la tolérance à la salinité, identifier les régions chromosomiques qui gouvernent ces caractères, c'est-à-dire réaliser la cartographie de QTL (locus des caractères quantitatifs). Cette identification peut être réalisée grâce à l'utilisation des marqueurs moléculaires. C'est pour cette raison que le travail présenté a pour objectif d'identifier des nouveaux QTLs pour la tolérance à la salinité chez une population issue d'un croisement entre Hasawi, un parent tolérant à la salinité et Sahel 108, un parent récurrent.

Dans ce document, nous présenterons d'abord la revue bibliographique dans laquelle nous traiterons des généralités sur le riz ainsi que de la salinité et des techniques de biologie moléculaire. Ensuite, nous présenterons le matériel utilisé ainsi que les méthodologies développées. Par ailleurs, nous présenterons et discuterons les résultats obtenus. Et enfin, nous dégagerons les conclusions et des perspectives.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

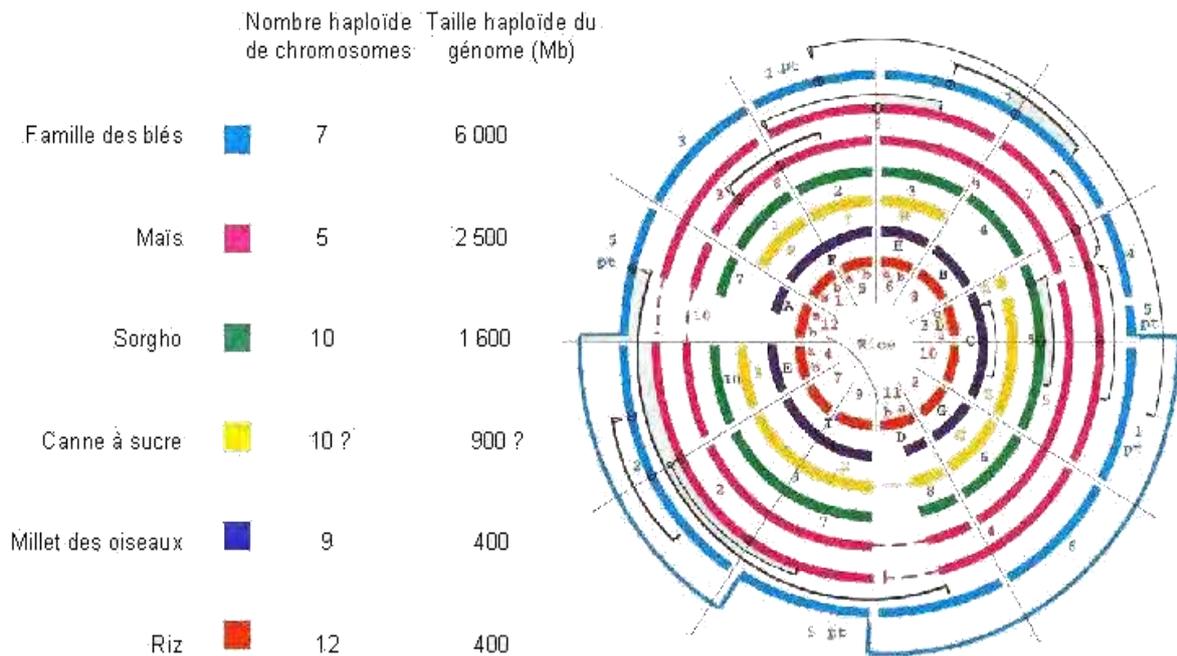


Figure 1. Comparaison du génome du riz avec ceux d'autres céréales

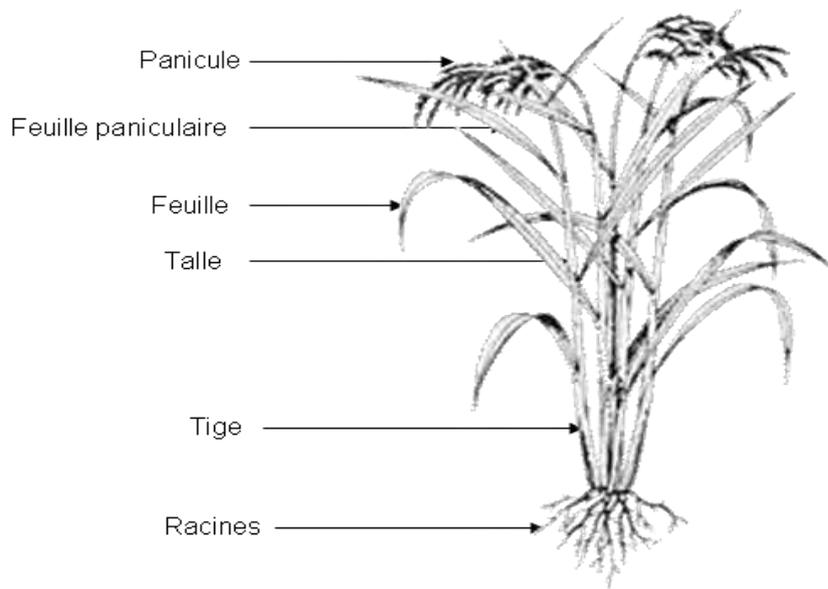


Figure 2. Le plant de riz

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

La culture du riz a commencé depuis la révolution du néolithique. Elle s'est développée d'abord en Chine puis s'est étendue dans le reste du monde. Le riz présente une biodiversité exceptionnelle ; aujourd'hui, près de 2 000 variétés sont cultivées.

1. Présentation de la plante

1.1. Systématique

Le riz est une graminée qui appartient à la famille des poacées et au genre *Oryza* qui comprend une vingtaine d'espèces dont deux seulement sont cultivées : *O. sativa* et *O. glaberrima*.

L'espèce *O. sativa*, originaire d'Asie comprend deux sous espèces :

- La sous espèce *indica* a un épillet très long, des feuilles vertes claires, un tallage important et des grains longs et fins. Il est originaire d'Asie tropicale.
- La sous espèce *japonica* présente un épillet court, des feuilles vertes foncées, un tallage important et des grains courts et ronds. Il est originaire de la zone tempérée et subtropicale de l'Asie.

L'espèce *O. glaberrima* ou riz africain est caractérisée par une ligule courte et tronquée avec un excellent développement végétatif. Originaire du delta du Niger et du Sénégal, il présente peu de ramifications secondaires ou, dans certains cas, n'en présente pas.

1.2. Le Génome du riz

Le riz est une plante diploïde autogame avec $2n = 2x = 24$. De toutes les céréales, le riz possède le plus petit génome : 430 millions de nucléotides. Le génome du maïs est cinq fois plus gros et celui du blé 40 fois plus gros. C'est la raison pour laquelle, à l'image de l'espèce *Arabidopsis thaliana*, le riz sert de modèle pour l'un des deux groupes de plantes à fleurs, les monocotylédones. (www.genoscope.cns.fr/sp) (Fig.1).

1.3. Morphologie

Le riz est une plante herbacée annuelle. Le plant est constitué par une tige, des racines secondaires ayant des poils absorbants. La racine primaire, qui croît à partir de la semence, ne vit qu'un court moment. Elle est rapidement remplacée par des racines secondaires (Lacharme, 2001). La hauteur est variable et peut atteindre 5m pour le riz flottant. Le tallage forme un bouquet de tiges rondes recouvertes de feuilles sessiles plates en forme de lame, terminées par une panicule dressée ou pendante et longue de 20 à 30cm. Chaque panicule est composée de 50 à 300 fleurs ou épillets à partir desquelles les grains se forment. Le fruit est un caryopse enveloppé dans deux glumelles, et l'ensemble forme le paddy (Fig.2).

Tableau 1 : Surfaces rizicoles et production de riz dans quelques pays

Pays	Surface cultivée (Mha)	Rendement (tonne/ha)	Production (Mt)	Production (%)
<u>Chine</u>	29,88	6,58	196,68	28,70
<u>Inde</u>	41,85	3,19	133,70	19,51
<u>Indonésie</u>	12,88	4,99	64,40	9,40
<u>Bangladesh</u>	11,35	4,20	47,72	6,96
<u>Viêt Nam</u>	7,44	5,23	38,90	5,68
<u>Birmanie</u>	8,00	4,09	32,68	4,77
<u>Thaïlande</u>	10,96	2,87	31,46	4,59
<u>Philippines</u>	4,53	3,59	16,27	2,37
<u>Brésil</u>	2,87	4,40	12,65	1,85
<u>Japon</u>	1,62	6,52	10,59	1,55
<u>Pakistan</u>	2,88	3,58	10,32	1,51
<u>États-Unis</u>	1,26	7,94	9,97	1,46
<u>Cambodge</u>	2,68	2,84	7,59	1,11
<u>Égypte</u>	0,75	10,00	7,50	1,09
<u>Corée du Sud</u>	0,92	7,60	7,02	1,02

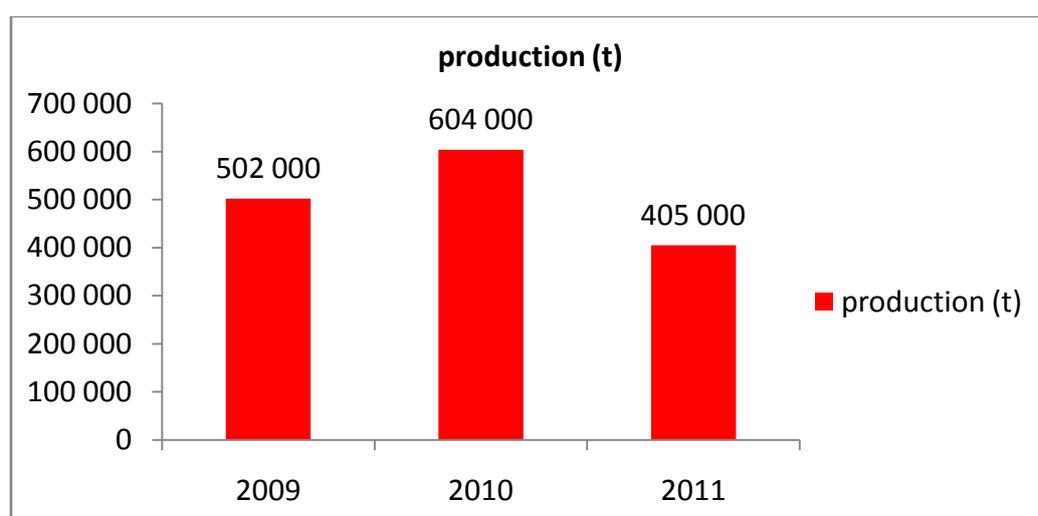


Figure 3. Productions de riz au Sénégal

2. Cycle de développement

La vie d'une plante de riz se divise en trois phases : la phase végétative, la phase reproductive et la phase de maturation.

2.1. La phase végétative

Cette phase correspond à un certain nombre de stades :

- le stade germinatif qui s'arrête à la percée de la radicule au niveau du grain ;
- le stade jeune plante correspond à la période comprise entre la percée de la radicule et l'apparition de la cinquième feuille ;
- le stade tallage coïncide avec l'apparition de la cinquième feuille et celle de la première talle. L'accroissement se poursuit jusqu'au tallage maximum ;
- le stade d'élongation renvoie à l'élongation des entrenœuds au cours de la période de tallage actif.

2.2. La phase reproductive

C'est au niveau de cette phase que se forment les organes reproductifs. Elle comprend les stades suivants :

- le stade initiation paniculaire qui marque le début de la phase reproductive. Le déclenchement de l'initiation paniculaire dépend de la variété et de la saison ;
- le stade montaison ou développement de la panicule est caractérisé par une enflure de la gaine foliaire due à une montée de la panicule à l'intérieur de la tige ;
- le stade épiaison correspond à l'émergence de la panicule au niveau de l'articulation gainelimbe de la feuille paniculaire ;
- le stade floraison commence deux à trois jours après l'épiaison et se poursuit jusqu'à la sortie complète de la panicule.

2.3. La phase de maturation

Cette phase comprend les stades suivants :

- le stade laiteux durant lequel le contenu du caryopse, qui était aqueux, prend une consistance laiteuse. Les panicules sont vertes et dressées ;
- le stade pâteux où le contenu du grain se transforme en pâte dure. La couleur des grains évolue progressivement : elle part du vert pour aboutir à la couleur caractéristique de la variété ;
- le stade mature pendant lequel le grain, mûr, devient dur et prend la couleur définitive de la variété.

3. La production et l'importance du riz

Le riz est un élément fondamental dans l'alimentation de nombreux pays, notamment en Amérique du sud, en Afrique et en Asie. C'est la première céréale mondiale pour l'alimentation. Il est produit dans de nombreux pays comme le montre le Tableau 1 (FAO, 2009).

Au Sénégal, la production de riz paddy, qui était de 502 000 t en 2009 et de 604 000 t en 2010, a régressé de 405 000 t en 2011. Ce qui correspond à environ 263 000 t de riz blanc, soit une baisse de 33 %. (ANSD 2012) (Fig.3).

Globalement entre 1984 et 2004, les surfaces rizicoles ont augmenté de 6%, la production de riz de 31% et les rendements moyens de 19%. Donc, d'importants progrès ont été obtenus compte tenu du niveau de départ déjà élevé des rendements en 1984 (3,25t /ha). Mais, l'effort ne peut être relâché du fait de l'augmentation de la population d'un milliard tous les 14 ans. Ainsi, il est prévu une forte progression des besoins de plus 40 à 60% dans les 25 années à venir. Celle-ci est plus rapide que l'accroissement tendanciel de la production mondiale (Trebuil et Hossain, 2004). Cette production sera aussi limitée par des contraintes biotique et abiotique comme la salinité.

4. Ecologie du riz

Le riz tolère un large éventail de conditions climatiques, édaphiques et hydrologiques (ADRAO, 1995). Ses besoins en eau sont élevés car, pendant la période végétative, il faut 160 à 300 mm par mois, soit un total variant entre 1000 et 1800 mm ; mais cela varie en fonction du stade de développement. Les fortes pluies sont nuisibles à l'épiaison de même que des températures atteignant 50°C peuvent conduire à la mort du plant de riz lequel exige une hygrométrie comprise entre 70 à 80% pour la floraison. Les températures optimales varient entre 30 et 35°C pendant la germination, entre 28 et 30°C pendant le tallage, entre 27 et 29°C à la floraison. Mais, pendant la maturation, elles s'élèvent à 25°C environ. Le riz est une plante de lumière qui exige une bonne insolation, facteur directement proportionnel au rendement. L'optimum est atteint pour des moyennes de l'ordre de 500 calories/cm²/jour.

Le riz préfère cependant les sols à texture fine contenant 40% d'argile, peu perméables et dont le pH optimum se situe entre 6 et 7. La texture souvent sableuse des sols d'Afrique tropicale est une contrainte à la productivité en raison du stress dû à la sécheresse, à la faible fertilité du sol et son lessivage. Dans les régions sèches du sahel où la culture du riz se pratique sous irrigation, on rencontre des problèmes de salinité des eaux de la nappe phréatique. Dans les basses terres situées sur les côtes d'Afrique de l'Ouest, la production du riz est affectée par l'intrusion d'eau saline. De plus, la majorité des sols de mangroves que l'on rencontre le long de cette côte sont des sols salinisés.

5. La salinisation

La salinité est provoquée par une concentration excessive de sels solubles dans le sol. Le sodium, le magnésium et le calcium sont les principales espèces ioniques du sel, mais le chlorure de sodium (NaCl) est le sel prédominant.

5.1. Les Causes de la salinité

La salinité survient dans les régions côtières, les régions arides et semi-arides. Dans les régions côtières, la salinité est occasionnée par l'inondation par les eaux de la mer. Elle est souvent associée à des pH bas, alors que dans les régions arides et semi arides, l'évapotranspiration très élevée entraîne un mouvement ascendant de l'eau. Ce qui se traduit par une accumulation de sels au niveau de la zone racinaire, et cette salinité est souvent associée à des pH élevés. Suivant les causes, on observe deux types de salinité : la salinité primaire et la salinité secondaire.

La salinité primaire ou salinité naturelle, qui représente 80% des causes de la salinité, a une origine naturelle. Elle est due à la formation de sel pendant l'altération des roches, les

conséquences de régression et de transgression de l'océan (Ceuppens et Wopereis, 1999), la remontée capillaire des eaux souterraines sous-marines et le transport des sels par le vent.

Les autres causes de la salinité ont une origine humaine, ce type de salinité étant qualifié de secondaire. En effet, 20% des terres irriguées ont des problèmes de salinité (Pitman et Lauchli, 2004). Lorsque l'irrigation est trop abondante, en l'absence d'un bon système de drainage, le sol est humidifié en profondeur ; ce qui permet au sel de remonter en surface. D'autres causes sont sources de salinisation : l'utilisation de produits chimiques et de produits phytosanitaires, l'utilisation inappropriée des eaux saumâtres pour l'irrigation, l'absence de travail du sol et d'un bon système de drainage des eaux. Cependant, dans les années à venir, le plus gros problème sera lié au réchauffement climatique et à l'augmentation de la population mondiale, car l'irrigation va devenir de plus en plus indispensable notamment dans les régions arides afin de combler les déficits en eau, utiliser un maximum de terre arables et subvenir aux besoins d'une population croissante. De plus, les phénomènes d'évapotranspiration, dus à l'augmentation de la température, vont augmenter les concentrations de sel.

5.2. Les conséquences de la salinité sur le riz

L'effet de la salinité sur la croissance du riz dépend du stade de développement. Le riz est très tolérant à la salinité au moment de la germination, et sensible au stade une à deux feuilles de la plante. Cette tolérance augmente progressivement durant le tallage et l'élongation et décroît à partir de l'initiation florale jusqu'à la floraison. La maturation est peu touchée par la salinité (Lacharme, 2001).

Chez le riz, on observe des symptômes morphologiques dus à la salinité. En effet, on note un arrêt de la croissance des jeunes pousses qui restent vertes mais complètement sèches, une réduction de la croissance au stade tallage, une diminution du poids des racines et des tiges, du volume racinaire. On remarque aussi une réduction du nombre de feuilles vertes, un raccourcissement de la durée de floraison et de maturation, une diminution des branches paniculaires, un non-remplissage d'un grand nombre d'épillets, une réduction du poids des grains et par conséquent du rendement (Lacharme, 2001).

5.3. Les mécanismes de tolérance à la salinité

Il existe deux principales stratégies que les plantes utilisent pour faire face à la salinité : la compartimentation des ions toxiques au sein de la vacuole et leur exclusion hors de la cellule (Hasegawa *et al.*, 2000; Borsani *et al.*, 2003; Munns 2005; Yamaguchi et Blumwald 2005; Apse et Blumwald 2007). Par ailleurs, les plantes modifient la composition de leur sève; elles peuvent accumuler les ions Na^+ et Cl^- pour ajuster le potentiel hydrique des tissus nécessaire pour maintenir la croissance (Munns 2005). En revanche, si cette accumulation n'a pas lieu, la plante devra synthétiser des solutés compatibles pour ajuster son potentiel hydrique. Ces solutés compatibles comprennent essentiellement la proline (Chen et Jiang 2010), la glycine bêtaïne (Wang et Nil, 2000), les sucres et les polyols (Hoekstra *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2002). L'accumulation des solutés compatibles permet l'absorption de l'eau de l'environnement (Messedi *et al.*, 2006). Le stress salin induit l'apparition d'espèces réactives d'oxygène, lesquelles sont neutralisées par des enzymes anti oxydantes comme la peroxydase, la glutathion S-transférase et la glutathion peroxydase (Noctor et Foyer 1998 ; Blumwald *et al.*, 2004; Sairam et Tyagi 2004; Munns 2005 ; Türkan et Demiral 2009; Ksouri *et al.*, 2010).

Tableau 2 : Régions et superficies affectées par la salinité au Sénégal (Source INP, 2008)

Zones	Superficies (ha)
Casamance	26 2422
Vallée du fleuve	179 765
Fleuve Gambie	192 332
Niayes	7 165
Sine-Saloum	221 360
Sénégal oriental	133 901
Total	996 947

En outre, le stress salin déclenche l'augmentation des hormones végétales comme l'acide abscissique (ABA). L'ABA joue un rôle important dans la tolérance à la salinité car il favorise la fermeture des stomates en changeant le flux des ions dans les cellules de garde. De même, l'augmentation de l'absorption de Ca^{2+} est liée à celle de l'ABA en conditions de stress salin contribuant ainsi au maintien de l'intégrité membranaire. Cela permet aux plantes de réguler l'absorption et le transport dans le cas d'excès de la salinité à long terme (Chen *et al.*, 2001). Les plantes peuvent aussi changer leur voie de la photosynthèse en ouvrant leurs stomates pendant la nuit ce qui entraîne une réduction des pertes d'eau par transpiration en conditions de stress prolongé (Zhu et Meinzer, 1999).

5.4. Salinisation des terres dans le monde

Globalement dans le monde, on perd en moyenne 10 hectares de terres cultivables par minute dont 3 ha à cause de la salinisation (Kovda, 1983). Aujourd'hui, on estime à, à peu près, 400 Mha des terres affectées par la salinisation (Bot *et al.*, 2000). En Afrique, près de 40 Mha sont affectés par la salinisation, soit près de 2% de la surface totale. Au Proche Orient, près de 92 Mha sont affectés par la salinisation, soit près de 5% de la surface totale (IPTRID 2006). Les régions du monde les plus affectées par la salinité sont la Tunisie l'Egypte, l'Iraq, l'Iran, le Pakistan et la Californie. Au Sénégal, certaines régions sont touchées par la salinité comme le montre le Tableau 2.

5.5. Les solutions pour la salinité

La salinisation des terres irriguées occasionne des pertes financières qui s'élève à peu près à 250 dollars/ha, soit environ 11 milliards de dollars de pertes totales (IPTRID, 2006), donc des solutions s'imposent pour remédier ce problème.

Parmi les solutions préconisées, il y'a la méthode de drainage profond qui consiste à :

- rabattre la nappe phréatique pour limiter les remontées capillaires de sel ;
- créer un flux souterrain qui permet d'évacuer l'excès de sel hors de la parcelle ;
- couper le flux souterrain d'eau chargé en sel d'une parcelle à un autre.

Pour lutter contre la salinité, il faut éviter les concentrations de sel dans le sol. Cette méthode consiste à nettoyer le sol avant la culture par une forte irrigation, puis à laisser stagner l'eau pendant un certain temps pour qu'elle dissolve le sel en excès et enfin renouveler l'irrigation pendant la culture. Cependant, il faut éviter les apports excessifs d'eau (Lacharme, 2001).

Une autre solution consiste en l'utilisation de variétés tolérantes à la salinité et des techniques de biologies moléculaires comme la cartographie de QTL grâce à des marqueurs moléculaires.

6. Détection de QTLs associés à la salinité chez le riz

Pour lutter contre la salinité, il faut nécessairement connaître les mécanismes de tolérance à la salinité, identifier les régions chromosomiques associées à ces caractères en utilisant la cartographie de QTL.

6.1. Les loci de caractères quantitatifs

Un locus de caractères quantitatifs ou Quantitative Trait Locus (QTL) est une région plus ou moins grande d'ADN qui est étroitement associée à un caractère quantitatif. En

d'autres termes, il s'agit d'une région chromosomique où est localisé un ou plusieurs gènes à l'origine du caractère en question. Les QTLs permettent de connaître le nombre minimum de locus en cause, leur position dans le chromosome, leurs effets suivant la variation du caractère, leurs caractéristiques génétiques (additivité, dominance, épistasie) et leur stabilité selon l'environnement. Pour détecter des QTLs, il faut des marqueurs moléculaires.

6.2. Les marqueurs moléculaires

Un marqueur moléculaire est une séquence d'ADN qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte. Un bon marqueur doit être d'une héritabilité simple, polymorphe, multi allélique et co-dominant. Contrairement aux marqueurs traditionnels (morphologique et biochimique), les marqueurs moléculaires ne sont pas influencés par l'environnement et sont observables à n'importe quel stade de développement de la plante et sur n'importe quel organe. Les marqueurs sont d'une grande importance dans l'amélioration des cultures à valeurs agronomiques (Eagles *et al.*, 2001, Langridge *et al.*, 2001).

Parmi les marqueurs moléculaires, nous avons les marqueurs AFLP (polymorphisme de longueur des fragments amplifiés), les marqueurs RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction) et les marqueurs microsatellites ou Simple Sequence Repeat (SSR).

- Les marqueurs RFLP

La technique RFLP repose sur la mise en évidence de la variabilité de la séquence nucléotidique de l'ADN génomique après digestion par des enzymes de restriction (Botschian *et al.*, en 1980). Les fragments d'ADN, après migration sur un gel d'agarose, sont transférés par capillarité, sous forme dénaturée sur une membrane de nitrocellulose, et révélés par hybridation dans une solution contenant un fragment d'ADN complémentaire appelé sonde. Cette dernière permet de repérer par hybridation les fragments d'ADN génomiques qui lui sont complémentaires. La sonde marquée par du phosphore radioactif permet de détecter la différence entre deux génotypes par autoradiographie et constitue ainsi le marqueur. Cette technique, bien qu'elle soit co-dominante, permet une analyse génétique complète. Cependant, elle présente des limites car elle est lente et laborieuse. Certains auteurs ont utilisé les marqueurs RFLP pour détecter des QTLs associés à la tolérance à la salinité sur les chromosome 1, 3, 4, 5, 6, 7 du riz (Zang *et al.*, 1995 ; Lin *et al.*, 1998 ; Bonila *et al.*, (2002). Par ailleurs, en 2000, Prasad et coll. ont mis en évidence des QTLs qui contrôlent la longueur des racines, suite à l'application d'un stress salin sur le chromosome 6 du riz.

- Les marqueurs AFLP

Cette technique utilise à la fois des enzymes de restriction et l'amplification PCR (Vos *et al.*, 1995). L'ADN génomique est coupé par deux enzymes de restriction. Des adaptateurs de séquences, connus et spécifiques aux enzymes de restriction utilisés, sont ajoutés aux extrémités des fragments de restriction, générant ainsi une matrice pour l'amplification. Une amplification première, dite pré-amplification, est réalisée à l'aide d'amorces de séquence complémentaire à la séquence des adaptateurs et des sites de restriction. La deuxième amplification, dite sélective, utilise des amorces identiques aux premières, mais prolongées à l'extrémité 3' de quelques nucléotides arbitraires. Ainsi, c'est la combinaison enzyme de restriction /amorce qui constitue le marqueur AFLP. Les fragments

d'ADN sont séparés par électrophorèse sur gel d'acrylamide, puis visualisés par coloration au nitrate d'argent ou révélés grâce à un marqueur radioactif. C'est une technique rapide, reproductible et puissante ; mais le coût élevé et les difficultés techniques liées au marquage limitent son utilisation à grande échelle.

Grâce à cette technique, des QTLs contrôlant le poids sec des pousses et des racines, la concentration de sodium, l'absorption de potassium, la durée de survie des plantes et d'autres liés au rapport Na^+/K^+ ont été identifiés chez le riz (MASOOD *et al.*, 2004 ; Koyama *et al.*, 2001 ; Ming *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2007).

- Les microsatellites ou SSR

Ils ont été développés par Morgante Olivieri (1993). Ils sont constitués de séquences de di, tri-ou tétra- nucléotidique répétés en tandem. Ces éléments sont uniformément répartis en plusieurs exemplaires sur l'ensemble du génome d'une espèce et présente un taux de polymorphisme élevé. Ce polymorphisme repose sur la variation du nombre d'unités de répétition constituant le microsatellite. Les séquences flanquant ces éléments répétés permettent de définir les amorces qui seront utilisées pour l'amplification PCR. C'est la paire d'amorce spécifique des bordures droite et gauche du microsatellite qui constitue le marqueur. L'analyse des produits amplifiés s'effectue sur gel d'acrylamide ou d'agarose. Les marqueurs SSR sont co-dominants, reproductibles et faciles d'utilisation. Mais leur caractérisation initiale est assez lourde car il doit passer par le clonage et le séquençage des éléments répétés. Actuellement, la disponibilité des données génomiques du riz dans le Web et des logiciels de détection des microsatellites rend leur identification plus aisée.

Ainsi, les microsatellites ont permis de détecter des QTLs majeurs de tolérance à la salinité sur le chromosome 1 (Lang *et al.*, 2001 ; Gregorio *et al.*, 2002 ; Gong *et al.*, 1999 ; Bonilla *et al.*, 2002 ; Lee *et al.*, 2006). Récemment, diverses investigations ont permis de détecter des QTLs liés à la longueur des racines en condition de stress salin sur les chromosomes 1, 4, 7, 8 et 9. De même, des QTLs associés au poids sec des racines sont détectés sur le chromosome 9, alors que d'autres, qui contrôlent les échanges ioniques, sont mis en évidence sur les chromosomes 3 et 10 et pour la teneur en chlorophylle sur le chromosome 3. Certains de ces marqueurs sont liés aux microsatellites RM8094 et RM210 (Sabouri et Sabouri, 2008 ; Islam *et al.*, 2011).

6.3. Méthodes de détection de QTL

Il existe différentes méthodes de détection de QTL comme l'analyse simple marqueur qui consiste à faire des tests classiques de comparaison de moyennes et d'analyse de variance. Quant à l'analyse par intervalle, elle consiste à déterminer le maximum de vraisemblance et de régression (Lander et Bostein, 1989). Enfin, il y a l'analyse par intervalle composite dont le principe est l'élimination de l'impact des QTLs importants (Zheng, 1994, Jansen et Stam, 1993). Elle présente des avantages comme la précision de la localisation des QTLs et leur libération de l'effet de gènes majeures. Il existe aussi des logiciels de cartographie de QTL comme QTL cartographer, mapmaker/QTL et Qgene que nous avons utilisés lors de cette étude.

MATERIEL ET METHODES

Tableau 3 : Variétés utilisées pour l'étude de la diversité allélique

Génotypes tolérants	Génotypes sensibles
1 CAMARO	1 BG-90-2
2 HASAWI (IRRI)	2 ITA212
3 IR4630-22-2	3 IR31785
4 IR65483-104-13-13-22-16-B	4 KOGONI 90-91-1
5 IR65485-111-5-9-2-11B	5 NERICAL-19
6 IR83424	6 SAHEL 108
7 IR86151-B1-24	7 SAHEL 159
8 IR87233:179-2-B	8 SAHEL177
9 JARMISSA	9 SAHEL201
10 NERICAL-9	10 SAHEL202
11 NERICAL-23	11 SAHEL 217
12 NERICAL-24	12 SAHEL 305
13 NERICAL-27	13 SAHEL328
14 POKKALI(IRRI)	14 SAHEL329
15 TOG7230 (<i>O. glaberrima</i>)	15 IR29 (témoin international)
16 FL478 (témoin international)	

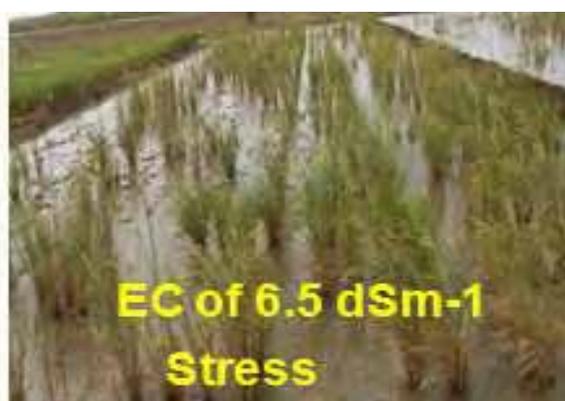


Figure 4. Culture en condition de non stress Figure 5. Culture en condition de stress

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Les variétés de riz utilisées pour l'étude de la diversité allélique, entre les différents parents par rapport à la salinité, sont listées dans le Tableau 3 et comprennent 16 génotypes tolérants et 15 génotypes sensibles provenant de la collection d'AfricaRice.

Pour l'identification des QTLs, une population F₂ a été utilisée. Elle est constituée de 66 individus et 94 pour la randomisation, soit un total de 160 individus issus du croisement entre les variétés Sahel 108 parent récurrent, et Hasawi, un parent donneur tolérant à la salinité.

2. Culture des plantes au champ

Les plantes F₂ ont été cultivées dans deux zones différentes. Les plantes témoins ont été cultivées à Ndiaye (Fig.4) où la salinité est développée avec une conductivité EC inférieure à 2,5 dsm⁻¹. Les plantes soumises à un stress salin ont été cultivées dans la zone de Ndiol caractérisée par une conductivité de 6,5 dsm⁻¹ (Fig.5). Les plantes ont été irriguées régulièrement avec l'eau du fleuve Sénégal dans les deux essais.

A maturité, les paramètres agro-morphologiques suivants ont été mesurés : la hauteur de la plante, le tallage, le pourcentage de stérilité, le nombre de panicules par m², le poids des 1000 grains, la date de floraison, le rendement et le score. Ce dernier, selon le système d'évaluation standard (SES) produit par l'IRRI, consiste à attribuer des chiffres 1, 3, 5, 7 et 9 qui représentent respectivement les valeurs suivantes : fortement tolérant, tolérant, modérément tolérant, sensible et fortement sensible.

3. Culture des plantes au laboratoire

Les grains des plantes (F₁ et F₂), environ 15 à 20, ont été semés dans des boîtes de Petri contenant un papier Kraft imbibé d'eau distillée qui sert de support, puis incubée dans le laboratoire à la température ambiante. Au bout de 7 jours, les jeunes plantes ont été transférées dans des bacs contenant de l'argile prélevée au champ et placés dans une serre où les températures varient entre 16 et 45°C, et l'humidité entre 33 % et 69 %. Ces plantes ont été arrosées régulièrement jusqu'au stade 2 à 3 feuilles pour l'extraction d'ADN.

4. Analyse moléculaire

4.1. Extraction de l'ADN

L'ADN a été extrait à partir de 2 à 3 petites feuilles fraîches de jeunes plantes âgées d'un mois selon le protocole CTAB modifié par Murray et Thompson (1980). Les feuilles ont été coupées en petits morceaux puis placées dans un tube Eppendorf de 2 ml contenant 2 billes en inox pour augmenter l'effet abrasif. Les tubes ont ensuite été placés dans une machine à broyer (Geno/Grinder) pendant 8 min. Après broyage, 800 µl du tampon d'extraction CTAB ont été ajoutés pour la lyse des parois cellulaires. Les tubes ont ensuite été incubés dans un bain marie à 65°C pendant 1 h. Après un refroidissement de 5 min à la

température ambiante, 800 µl d'un mélange chloroforme-isoamylalcool (24 :1 v :v) ont été ajoutés puis centrifugés (Coulter, BECKMAN) à 12000 rpm pendant 10 min et 600µl du surnageant ont été prélevés et transférés dans un tube Eppendorf de 1,5 ml. L'ADN a été précipité avec 600 µl d'isopropanol froid puis incubé à -20°C pendant une nuit. Ensuite, les tubes ont été centrifugés à 12 000 rpm pendant 10 min puis le surnageant a été éliminé. Afin de laver le culot d'ADN, 600 µl d'éthanol 70% ont été ajoutés puis une centrifugation de 12 000 rpm pendant 10 min a été réalisée. Après centrifugation, le surnageant a été éliminé puis l'ADN a été séché à la température ambiante pendant 1 h puis dissout dans 200 µl de TE 1X. Les solutions d'ADN ont été conservées à -20°C et diluées à 25% pour les réactions d'amplification.

4.2. Amplification de l'ADN

La réaction d'amplification a été réalisée dans un tube de 200 µl contenant 2 µl d'ADN (100 ng/µl), 8 µl d'une solution Mixte constituée de 4.2 µl ddH₂O, 1 µl de tampon PCR 10X (1.5 mM), 1 µl de dNTPs (1 mM), 0.3 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,5 µl de chaque amorce (10 mM) et 0.5 µl de Taq polymérase ratio 1 :30 sur un volume final de 10 µl. A la fin du mélange réactionnel, 9 µl d'huile minérale stérile ont été ajoutés pour éviter l'évaporation. Les tubes ont ensuite été placés dans un thermocycleur (G-Storm) programmé à 94°C pendant 5 min pour une pré-dénaturation suivie de 35 cycles avec une dénaturation de 30 s à 94°C, une hybridation de 30 s à 55°C et une élongation de 30 s à 72°C et enfin une élongation finale de 5 min à 72°C.

4.3. Electrophorèse et visualisation des ampliats

Après la réaction d'amplification, 3 µl de tampon de charge (bleu de bromophénol), ont été ajoutés aux ampliats, puis une migration sur gel d'acrylamide (7.5%) ou d'agarose (3%) a été réalisée. Le gel d'acrylamide a été préparé en ajoutant 55,3 ml de H₂O stérile, 3 ml de 10% de TAE ou TBE, 15 ml de 40% d'acrylamide, 600 µl de 10% d'APS et 50 µl de TEMED.

Après migration, l'ADN a été coloré dans une solution contenant 5% de bromure d'ethidium pendant 10 à 15 min, puis éclairé sous UV à 320 nm et photographié à l'aide d'un système Gel doc (Multi Doc. It Digital Imaging System).

5. Analyse des liaisons

L'analyse des liaisons a été réalisée grâce à un logiciel qgene version 4.3.10. L'identification des QTLs a été réalisée par simple marqueur de régression (SMR) et par composite interval mapping. Pour déterminer les QTLs, nous avons fait 10 000 permutations avec 4 itérations qui permettent de déterminer le seuil de LOD pour $p = 0.05$ et $p = 0.01$. SMR permet de déterminer l'effet des marqueurs et la corrélation entre les traits.

Le pourcentage de variation phénotypique est calculé à partir de la régression de chaque combinaison de marqueurs et phénotype. Un seuil de LOD de 2 est utilisé pour déterminer la présence d'un QTL. Le LOD se calcule de la façon suivante :

$LOD = \log_{10} v(\text{présence de QTL})/v(\text{absence de QTL})$.

Un LOD de 2 indique l'existence d'un QTL 100 fois plus probable que son absence.

6. Analyse des relations phyllogénétiques

L'utilisation du logiciel GGT à partir du scoring des différents marqueurs et de leur locus a permis d'obtenir une matrice qui montre les distances génétiques. Cette matrice a permis de tracer un dendrogramme à partir duquel on peut voir les relations phyllogénétiques entre les génotypes tolérants et les génotypes sensibles.

RESULTATS

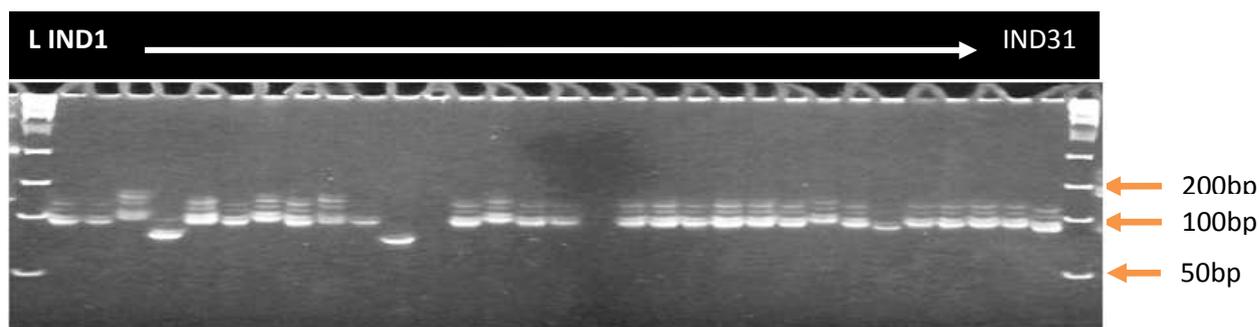


Figure 6. Diversité allélique entre géotypes tolérants et géotypes sensibles (RM278)

Légende : L= Lader 1= FL478 ; 2= POKKALI ; 3= HASAWI ; 4= TOG7230 ; 5= JARMISSA 6= NERICAL24 ; 7= IR83424 ; 8= CAMARO ; 9= IR65485-111-5-9-2-11B ; 10= NERICAL9 ; 11= IR65483-104-13-13-22-16-B ; 12= NERICAL27 ; 13= NERICAL23 ; 14= IR86151-B1-24 ; 15= IR4630-22-2 ; 16= IR87233:179-2-B ; 17= SAHEL329 ; 18= ITA212 ; 19= KOGONI 90-91-1 ; 20= BG-90-2 ; 21= SAHEL 217 ; 22= SAHEL 108 ; 23= SAHEL201 ; 24= NERICAL19 ; 25= IR29 ; 26= SAHEL 305 ; 27= SAHEL 159 ; 28= SAHEL328 ; 29= SAHEL202 ; 30= SAHEL177 ; 31= IR31785S

Tableau 4 : Informations fournies par les SSR lors de l'étude de la diversité allélique

Marqueur	chromosome	Allèles	allèles rares	fréquence allélique la plus répété (%)	Valeur PIC ¹
RM572	1	3	0	61,3	0,550
RM294B	1	1	0	100	0,000
RM493	1	6	1	25,8	0,810
RM10843	1	2	0	71	0,440
RM250	2	2	0	87,1	0,230
RM208	2	6	1	71	0,470
RM551	4	3	1	64,5	0,470
RM537	4	2	0	71	0,440
RM273	4	4	0	58,1	0,610
RM336	6	8	2	38,7	0,750
RM477	8	3	1	80,6	0,320
RM281	8	4	0	38,7	0,690
RM278	9	4	0	67,7	0,510
RM215	9	3	1	77,4	0,390
RM467	10	2	1	93,5	0,120
RM311	10	1	0	100	0,000
TOTAL	16	54	8		
Moyenne		3,375	0,5		

¹*i* = PIC, polymorphic information content

RESULTATS

1. Etude de la Diversité allèlique

Parmi les 16 amorces SSR utilisées pour l'étude de la diversité allèlique, 14 se sont révélées polymorphes, soit 87,5 %. La figure 6 est un exemple d'illustration de profil SSR obtenu après amplification avec le marqueur RM278.

Ces marqueurs ont produit un nombre important d'allèles comme le montre le Tableau 4. Au total, 62 allèles ont été détectés dont 8 allèles rares dont la fréquence des répétitions est inférieure à 5%. Le nombre d'allèle par locus est de 2 pour les marqueurs RM467 et RM537. Il peut aller jusqu'à 8 allèles pour le marqueur RM336, avec une moyenne de 3,375 par locus. La fréquence allèlique est de 25,8% pour les marqueurs comme RM493 et peut aller jusqu'à 93,5% pour RM467.

2. Relations phyllogénétiques entre génotypes

L'analyse de l'arbre (Fig. 7) présente trois groupes. Le groupe 1 est constitué essentiellement de variétés tolérantes comme les FL478, Hasawi, Jarmissa et Pokkali. Dans le groupe 2, on a des variétés tolérantes mais constituées, pour la plupart, par la famille des NERICA (NERICA-L9, NERICA-L-23, NERICA-L-24 et NERICA-L-27). Et pour le groupe 3, on a des variétés sensibles constituées principalement par les Sahel (Sahel 201, Sahel 328, Sahel 305 et Sahel 329).

3. Analyses des données phénotypiques

L'analyse des données obtenues pour le stress (Fig. 8) montre que sur les 64 individus étudiés, 30 ont un SES score de 3, et 22 ont un SES score de 1. Les SES score de 1 et 3 indiquent une tolérance considérable par rapport au stress. Par contre, 10 individus ont un SES score de 5 : donc, ils sont modérément tolérants. 1 individu a un SES score de 7, c'est-à-dire qu'il est sensible ; et 1 autre a un SES score de 9 qui est très sensible.

3.1. Comparaison des traits phénotypiques

L'analyse des données phénotypiques montre qu'en condition de stress, la hauteur de la plupart des plantes est comprise entre 60 et 80 cm, alors que pour le témoin la majorité des plantes ont une hauteur située entre 120 et 155cm (Fig. 9). La salinité entraîne une réduction de la croissance des plantes.

On constate aussi une diminution nette du nombre de panicules par m² et aussi du nombre de grain par panicule (Fig.10).

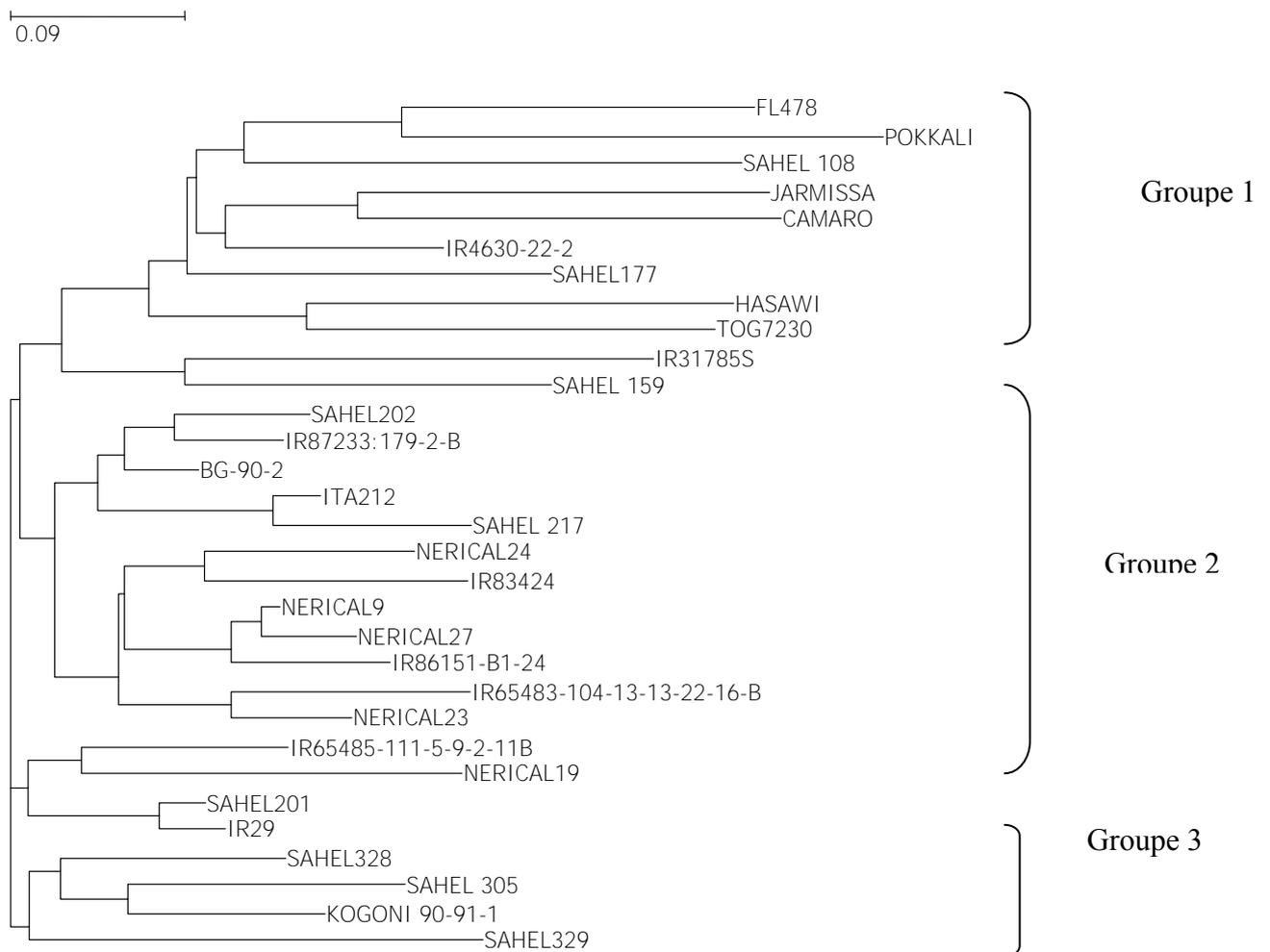


Figure 7 : Dendrogramme montrant les relations phylogénétiques entre des variétés de riz

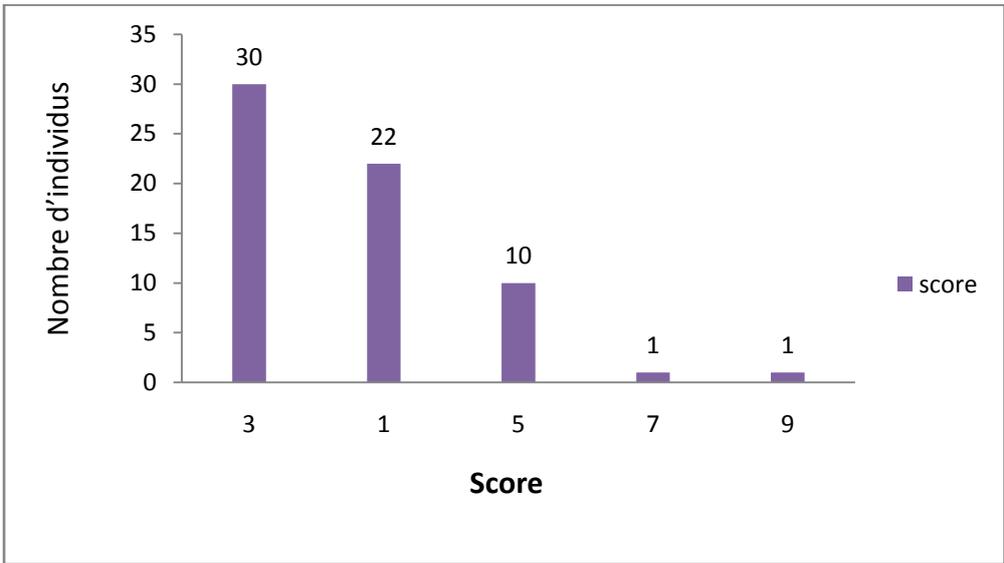


Figure 8 : Répartitions des individus en fonction de leur degré de tolérance à la salinité

Légende : 1= fortement tolérant, 3= tolérant, 5= modérément tolérant, 7= sensible, 9= fortement sensible selon le système d'évaluation standard (SES) produit par l'IRRI.

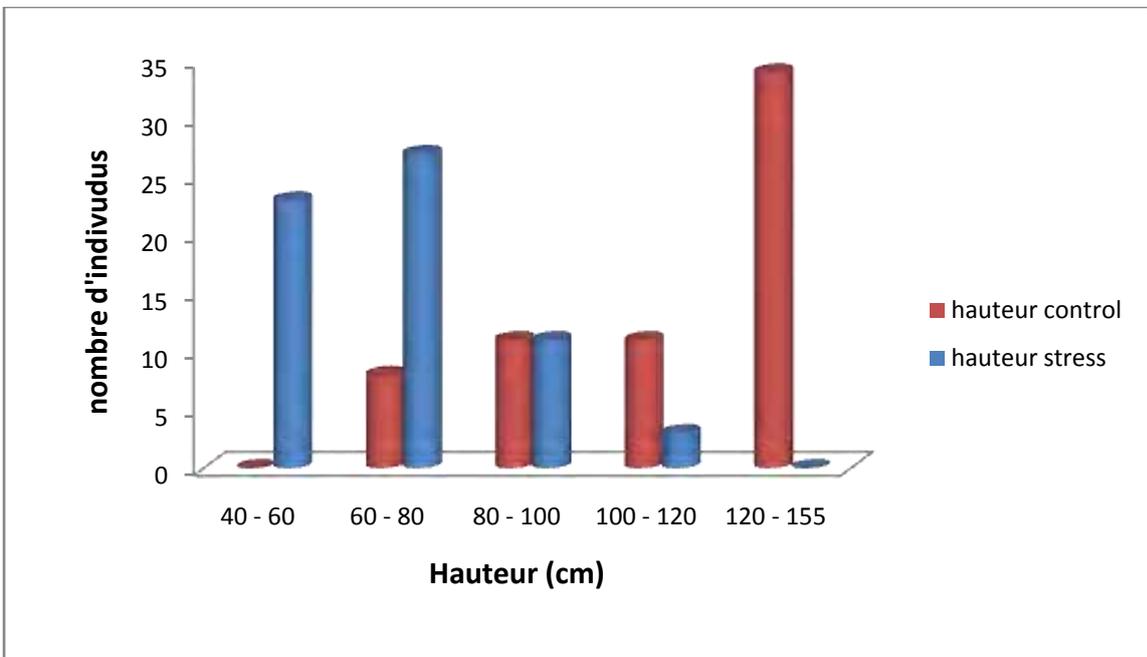


Figure 9 : Comparaison des hauteurs des plantes stressées et des témoins

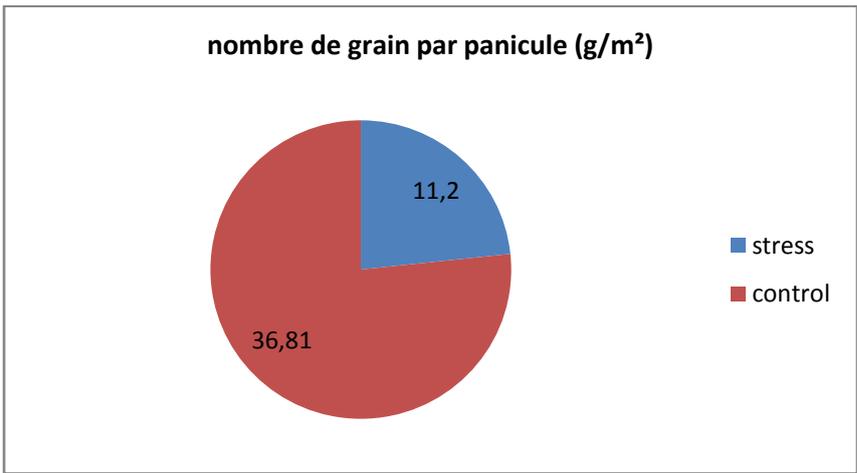


Figure 10: Le nombre moyen de grains par panicule chez les plantes stressées et les témoins

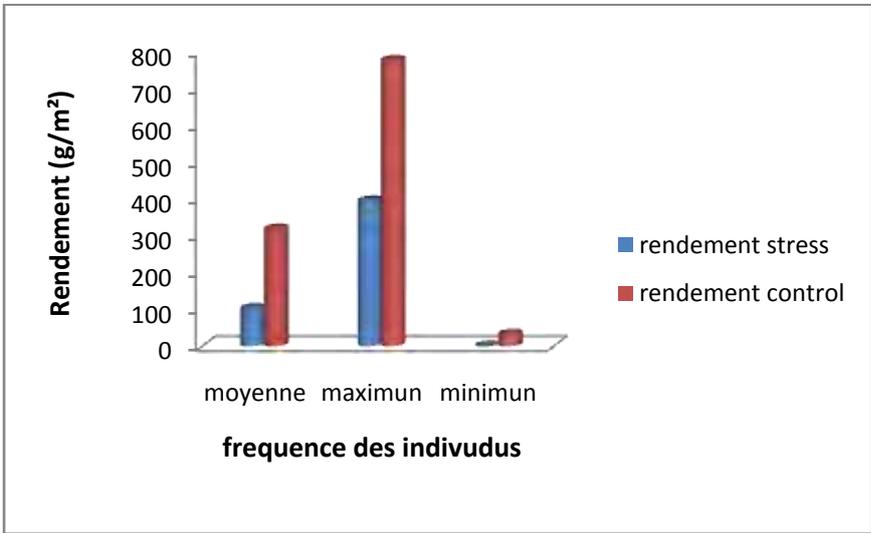


Figure 11 : Répartition des individus en fonction de leur rendement

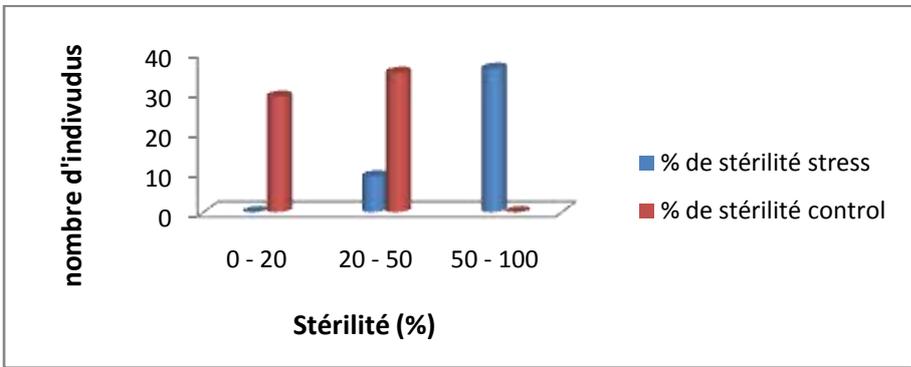


Figure 12: Pourcentage de stérilité des panicules en fonction du stress

Cette diminution est aussi notée pour le poids des milles grains qui diminue légèrement. La baisse de tous ces paramètres entraîne une réduction du rendement en condition de stress comme le montre la figure 11.

Par contre, le tallage et le pourcentage de stérilité (Fig. 12) augmentent pour le stress. De même, la date de floraison est plus tardive en condition de stress.

3.2. Corrélation entre les traits

L'étude du tableau 5 montre qu'en situation de non stress, on note des corrélations plus ou moins importantes, d'une part, entre le pourcentage de stérilité et le nombre de panicule par m² ($r = 0,51$) et, d'autre part, entre le pourcentage de stérilité et le nombre de grains par panicule ($r = 0,46$). Ceci montre une liaison entre ces trois paramètres en condition de non stress car la diminution du pourcentage de stérilité entraîne une augmentation du nombre de panicules par m², et aussi une hausse du nombre de grain par panicule.

Pour le stress environnemental, le tableau 6 montre des corrélations plus ou moins significatives entre le pourcentage de stérilité et la date de floraison ($r = 0,44$). Il en est de même avec le nombre de grain par panicule et le pourcentage de stérilité ($r = 0,45$). Le stress salin retarde la date de floraison et accroît le pourcentage de stérilité ; ce qui a pour conséquence une diminution du nombre de grain par panicule.

Tableau 5 : Corrélation entre les traits chez les plantes témoins (non stressées)

	Hauteur (cm)	Tallage	Date de floraison (jours)	Panicule /m ² (g/m ²)	Pourcentage Stérilité (%)	Grain/panicule (g/m ²)	Poids 1000 Grain (g)	Rendement des grains (g/m ²)
Hauteur(cm)	1.0	0.058	-0.08	0.22	0.15	0.18	0.35	0.15
Tallage		1.00	0.27	0.38	0.28	0.13	0.04	0.19
Date de floraison (jours)			1.00	0.03	0.18	-0.05	0.13	0.11
Panicule /m ² (g/m ²)				1.00	0.51	0.35	0.12	0.29
Pourcentage Stérilité(%)					1.00	0.46	0.11	0.14
Grain/panicule (g/m ²)						1.00	0.25	0.22
Poids 1000 Grain (g)							1.00	0.24
Rendement des grains (g/m ²)								1.00

Tableau 6 : Corrélation entre les traits chez les plantes stressées

	Score	Hauteur (cm)	Tallage	Date de floraison (jours)	Panicule /m ² (g/m ²)	Pourcentage Stérilité (%)	Grain/panicule (g/m ²)	Poids 1000 Grain (g)	Rendement des grains (g/m ²)
Score	1.00	-0.10	0.19	-0.03	0.24	0.13	0.06	0.106	0.022
Hauteur (cm)		1.00	-0.22	-0.01	-0.02	-0.05	-0.14	0.194	-0.197
Tallage			1.00	0.12	0.19	0.39	0.43	-0.191	-0.01
Date de floraison (jours)				1.00	0.26	0.44	0.23	-0.05	-0.29
Panicule /m ² (g/m ²)					1.00	0.32	0.26	0.033	-0.16
Pourcentage Stérilité (%)						1.00	0.45	-0.063	-0.21
Grain/panicule (g/m ²)							1.00	-0.161	0.06
Poids 1000 Grain (g)								1.00	0.22
Rendement des grains (g/m ²)									1.00

3.3. Identification des QTLs

Les marqueurs SSR polymorphes sont répartis de façon aléatoire sur le génome du riz. Les marqueurs couvrent 681 cM du génome du riz avec une moyenne de 75.66 cM entre les loci. Les différents profils électrophorétiques obtenus avec les marqueurs ont révélé des individus homozygotes qui ont soit l'allèle du parent Hasawi, soit l'allèle du parent Sahel 108, ou bien des individus hétérozygotes qui ont l'allèle des 2 parents (Fig. 13).

L'étude de l'association entre le phénotype et le génotype a permis de détecter des QTLs putatifs avec simple marqueur régression et leur interaction épistatique par composite interval mapping. Quand on a une association entre génotype et phénotype à un certain locus, on considère le QTL le plus proche du marqueur.

Les QTLs sont détectés pour 5 traits qui présentent une héritabilité supérieure à 0,4. Ces QTLs sont : la hauteur des plantes à maturité, le nombre de talles à maturité, la date de floraison, le nombre de panicule par m² et le pourcentage de fertilité. Ces QTLs sont situés sur les chromosomes 1, 2, 7, 10 et 11.

3.3.1. L'héritabilité des caractères

Les caractères comme la hauteur à maturité, la date de floraison, le pourcentage de fertilité des grains, les grains par panicules et le rendement présentent une héritabilité supérieure à 0,4 donc ils sont fortement héritables (Tableau 7). Ainsi, on pourra détecter des QTLs associés à ces caractères ce qui nous permettra de réaliser une analyse des liaisons génotype/phénotype.

3.3.2. Analyse avec simple marqueur régression

L'analyse avec simple marqueur régression en condition de stress et non stress salin est représentée sur le Tableau 8.

L'analyse du tableau 8 montre qu'en condition de non stress, on note 4 QTLs sur le chromosome 11 (*Ph.11.1a* ; *tn.11.1a* ; *GY.11.1* et *Pf.11.1*) qui contrôlent la hauteur à maturité, le tallage, le rendement des grains et le pourcentage de fertilité. Ces QTLs sont tous liés au marqueur RM229. Leur LOD score varie entre 11,5 et 36,5 comme le montre la figure 14. Le pourcentage de la variation phénotypique varie entre 30,5% et 68,9 %. Tous ces QTLs proviennent de Hasawi sauf le QTL qui contrôle le pourcentage de fertilité.

Lors de nos travaux, l'analyse des liaisons avec SMR en condition de stress salin a permis de détecter 4 QTLs sur le chromosome 7 (*Ph.7.1a*, *tn.7.1* *Dtf.7.1* *Pm.7.1a*). Ces QTLs sont associés au marqueur RM500 et contrôlent des traits comme la hauteur à maturité, le tallage, la date de floraison et le nombre de panicule par m². Parmi ces QTLs, celui qui a le LOD le plus élevé peut atteindre 12,8 (Fig. 15). Par ailleurs, notre analyse a montré que c'est Hasawi qui augmente la puissance de ces QTLs, d'où leurs effets additifs négatifs.

Quant au pourcentage de variation phénotypique, la valeur la plus élevée est de 36,1% au sein de la population soumise au stress salin.

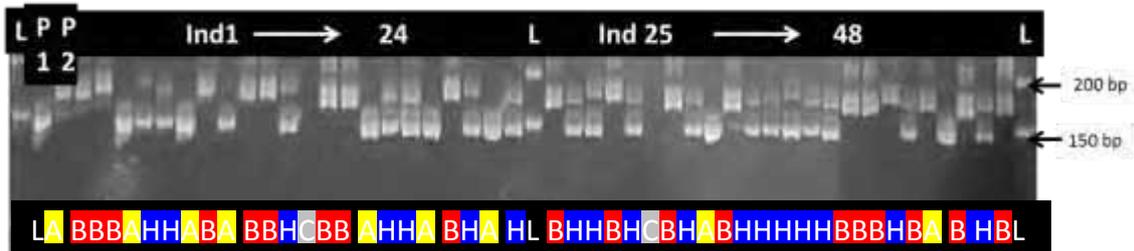


Figure 13 : Profil de l'amplification avec RM264

Légende L=Lader P1=Hasawi, P2=Sahel 108, A=allèle Hasawi, B=allèle Sahel 108, H=allèle hétérozygote C=allèle absent.

Tableau 7 : Héritabilité des caractères chez la population F2

Trait	Moyenne± SE	Range	Héritabilité (h ²)
1. Hauteur maturité (cm)	67.58 ± 1.94	39-106	0.61
2. Date de floraison (jours)	97.12 ± 0.94	82-107	0.70
3. Fertilité des panicules (%)	28.52 ± 5.26	0-71	0.57
4. Grain/panicule (g/m ²)	11.41 ± 1.32	0-41	0.46
5. Rendement (g/m ²)	103.17 ± 14.08	0-394	0.40

Tableau 8: Analyse des associations avec simple marqueur de régression

	Traits	QTL	Chrm	marqueur	Position(CM)	Effet additive	LOD	R ²
Non stress	Hauteur des plantes à maturité	<i>Ph.11.1a*</i>	11	RM229	73.9	-16,31	36,5	68,9
	Nombre de talles	<i>tn.11.1a*</i>	11	RM229	73,9	-1,55	22,1	50,7
	Rendement des grains (g/m ²)	<i>GY.11.1</i>	11	RM229	73.9	-30,69	11,5	30,5
	Fertilité des panicules (%)	<i>Pf.11.1*</i>	11	RM229	73,9	8,10	21,2	48,8
Stress	Hauteur des plantes à maturité	<i>Ph.7.1a</i>	7	RM500	36,1	-7,04	10,9	31,8
	Nombre de talles	<i>tn.7.1</i>	7	RM500	36,1	-1,21	8,3	23,3
	Nombre de jours pour la floraison	<i>Dtf.7.1</i>	7	RM500	36,1	-7,07	9,9	28,8
	Nombre panicules/m ²	<i>Pm.7.1a</i>	7	RM500	36.1		12,8	36,1

*existant sur www.gramene.org

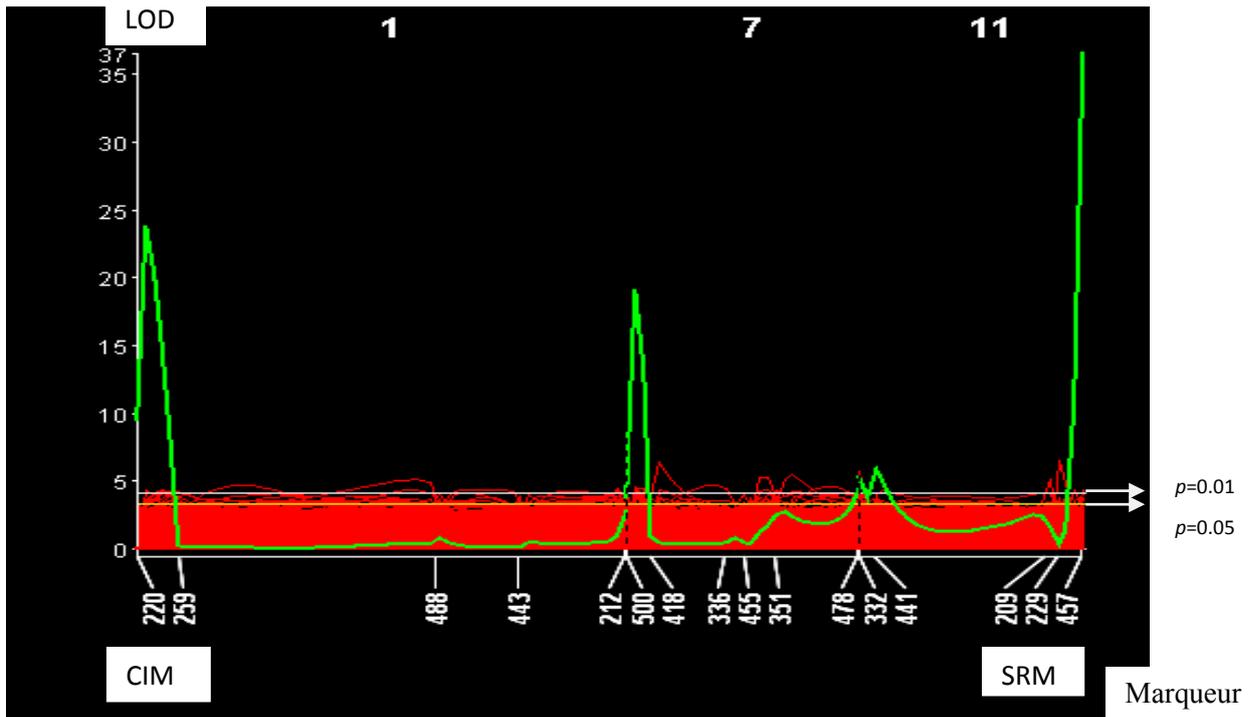


Figure 14 : Illustrations des QTLs les plus représentatifs en condition de non stress

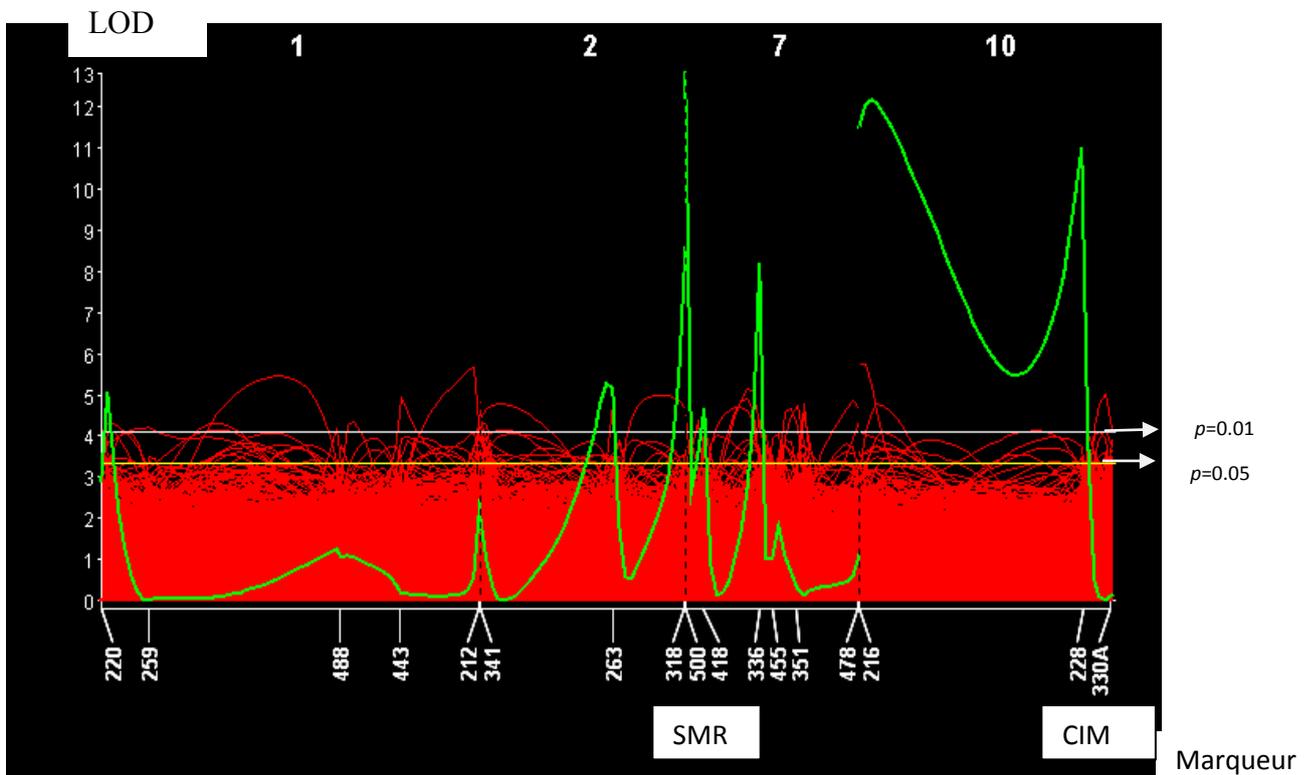


Figure 15: Représentation des QTLs les plus importants en condition de stress avec SMR et CIM

3.3.3. L'analyse avec Composite interval mapping (CIM)

L'utilisation de CIM permet de déterminer plus de QTLs sur l'intervalle qui sépare deux marqueurs comme illustré sur le tableau 9.

Le tableau 9 montre que chez les témoins, les QTLs sont sur les chromosomes 1, 2 et 7. Les QTLs du chromosome 1 sont *dtf1.1a*, *Ph.1.1*, *tn.1.1*, *Gy.1.1*, *Pf.1.1* et *Pm.1.1b* qui contrôlent respectivement la date de floraison, la hauteur à maturité, le tallage, le rendement des grains, le pourcentage de fertilité et le nombre de panicule par m². L'ensemble de ces QTLs sont dans l'intervalle RM220-RM259. Le plus important de ces QTLs est celui qui est associé au tallage avec un LOD score de 24,2 (Fig. 14); de même, le plus important pourcentage de variation phénotypique est estimé à 54%.

Sur le chromosome 2, on a un seul QTL *Gy.2.1* associé au rendement des grains avec un LOD de 6. Ce QTL est localisé dans le segment RM263-RM218.

Sur le chromosome 7, on distingue 6 QTLs (*dtf.7.1*, *Ph.7.1b*; *tn.7.1*, *Gy.7.1*, *Pf.7.1*, *Pm.7.1*) qui sont associés aux mêmes traits agronomiques que ceux situés sur le chromosome 1 et sont localisés entre RM500-RM418. Le LOD le plus élevé des QTLs du chromosome 7 est de 19,1, c'est lui aussi qui contrôle la hauteur à maturité. Ce QTL a la différence phénotypique la plus importante avec 45,7%.

En condition de stress salin, les QTLs ne sont détectés que sur les paramètres hauteur à maturité, le tallage, la date de floraison, le nombre de panicule par m² et le pourcentage de fertilité. Aucun QTL n'est détecté pour le rendement des grains.

Pour la hauteur à maturité, on a 3 QTLs *Ph.7.1c*, *Ph.10.1*; et *Ph.11.1b* sur les chromosomes 7, 10 et 11. Ces QTLs se situent entre RM418-RM336 pour le chromosome 7, entre RM228-RM330A pour le chromosome 10 et dans 1 intervalle RM332-RM441 pour le chromosome 11. Ces QTLs ont aussi une source d'allèle provenant de Sahel 108; leur LOD peut aller jusqu'à 9,4.

Pour le tallage, un seul QTL (*tn.11.1b*) est détecté sur le chromosome 11 avec un LOD score de 6,9, et il a la même source d'allèle que les QTLs précédemment décrits.

La date de floraison est associée à deux QTLs (*Dtf.1.1b*, *Dtf.10.1*) situés sur le chromosome 1 (entre RM220 et RM529), et le chromosome 10 (entre RM228 et RM330A). Ils ont un pic LOD de 10,4. On remarque que c'est Sahel 108 qui augmente l'effet de ces QTLs avec leurs effets additifs positifs.

Le nombre de panicule par m² enregistre le plus grand nombre de QTLs en condition de stress. Ces QTLs se retrouvent sur les chromosomes 1, 2, 7 et 10. Ce paramètre est aussi associé au QTL qui a le plus grand LOD en condition de stress. En effet, il s'agit du QTL *Pm.10.1* situé sur le chromosome 10, entre les marqueurs RM228-RM330A, et qui a un LOD de 11, comme le montre la figure 15. En outre, il a la variation phénotypique la plus importante qui est de 32%.

Enfin, on a un seul QTL sur le chromosome 10 lié au pourcentage de fertilité avec un LOD de 6,2 et une source d'allèle provenant de Hasawi, le nouveau donneur.

Tableau 9 : Analyse des liaisons avec composite interval mapping

	Traits	QTL	Chrm	marqueur	Position(CM)	Effet additive	LOD	R ²
Non stress	Nombre de jours pour la floraison	<i>dtfl.1a</i>	1	RM220- RM259	20.4-38.8	-6,24	13,3	34,4
		<i>Dtf.7.1</i>	7	RM500- RM418	36.1-42.1	-1,72	11,3	30,1
	Hauteur des plantes à maturité	<i>Ph.1.1*</i>	1	RM220- RM259	20.4-38.8	-7,27	23,8	53,3
		<i>Ph.7.1b</i>	7	RM500-418	36.1-42.1	-12,02	19,1	45,7
	Nombre de talles	<i>tn.1.1*</i>	1	RM220- RM259*	20.4-38.8	-1,71	24,2	53,9
		<i>tn.7.1</i>	7	RM500- RM418	36.1-42.1	-1,58	14,3	36,7
	Rendement des grains (g/m ²)	<i>Gy.1.1*</i>	1	RM220- RM259*	30,4-38.8	-16,33	14,3	36,3
		<i>Gy.2.1*</i>	2	RM263*- RM218	127.5-67.8	-	6,0	17,2
		<i>Gy.7.1</i>	7	RM500- RM418	36.1-42.1	-5,30	7,0	19,8
	Fertilité des panicules (%)	<i>Pf.1.1</i>	1	RM220- RM259	30,4-38.8	2,34	21,8	49,7
<i>Pf.7.1</i>		7	RM500-418	36.1-42.1	4,21	11,7	30,8	
	Nombre panicule/m ²	<i>Pm.1.1a*</i>	1	RM220*- RM259*	30,4-38.8	-58,07	23,6	52,5
		<i>Pm.7.1b</i>	7	RM500- RM418	36.1-42.1	-32,63	13,4	34,5
stress	Hauteur des plantes à maturité	<i>Ph.7.1c</i>	7	RM418- RM336	42.1-61	-	5,8	-
		<i>Ph.10.1</i>	10	RM228- RM330A	93 -101.9	5,47	9,4	28,1
		<i>Ph.11.1b</i>	11	RM332- RM441	27,9-32.1	3,80	8,5	25,9
	Nombre de talles	<i>tn.11.1b</i>	11	RM229- RM457	73.9-83	0,77	6,9	19,7
	Nombre de jours pour la floraison	<i>Dtf.1.1b</i>	1	RM220- RM529	20.4-189.6	1,21	5,0	15,9
		<i>Dtf.10.1</i>	10	RM228- RM330A	93-101.9	4,52	10,4	30,2
	Nombre panicule/m	<i>Pm.1.1b</i>	1	RM220- RM529	24,6-189.6	-42,66	5,1	16,2
		<i>Pm.2.1</i>	2	RM263- RM318	150,7-151	-	8,6	25,8
		<i>Pm.7.1c</i>	7	RM336- RM455	60,1-65.7	98,46	8,2	24,9
		<i>Pm.10.1</i>	10	RM228- RM330A	17.6-101.9	68,82	11,0	31,9
	Fertilité des panicules (%)	<i>Pf.10.1</i>	10	RM228- RM330A	17.6-101.9	-2,46	6,2	19,6

DISCUSSION

DISCUSSION

L'étude de la diversité allélique est très importante pour la conservation effective des ressources génétiques du riz. Son but est d'aider les conservateurs de banques de matériel génétique à préserver la diversité génétique, et de permettre aux sélectionneurs de l'utiliser efficacement (Olufowote *et al.*, 1997).

L'analyse des résultats montre que, pour la diversité allélique, la plupart des variétés qui se ressemblent phénotypiquement ont un génotype proche ; ce qui suggère que la tolérance à la salinité serait contrôlée par des gènes.

L'utilisation des ressources génétiques de riz disponibles au niveau des banques de gènes est une importante stratégie pour intégrer la variabilité génétique dans les programmes de sélection du riz. C'est ce qui peut potentiellement générer de nouveaux cultivars de base génétique élargie, et permettre de nouvelles combinaisons alléliques utiles (McCouch, 2005). Les variétés traditionnelles de riz, ou variétés locales, ont un niveau élevé d'hétérogénéité génétique par rapport aux cultivars modernes. Cette variabilité génétique est très importante pour les petits agriculteurs, parce que, malgré la capacité de rendement faible, ces variétés présentent une stabilité à haut rendement (Oka, 1991).

L'analyse des traits phénotypiques en condition de stress montre que la salinité entraîne une diminution de la croissance du fait qu'elle réduit la hauteur et la productivité des plantes. Elle accroît aussi le pourcentage de stérilité et retarde la date de floraison. Tous ces paramètres contribuent à diminuer le rendement.

On note également une augmentation des talles en condition de stress. En général, l'augmentation des talles dépend de la variété, de la densité des semis et de l'irrigation. Cette étude montre que la tolérance à la salinité est contrôlée par des gènes, d'où la nécessité de cartographier des QTLs liés à la tolérance à la salinité.

En condition de non stress, 17 QTLs sont découverts sur les chromosomes 1, 2, 7 et 11. En plus, on note un nombre important de QTLs sur les chromosomes 1 et 7 qui contrôlent des caractères comme la date de floraison, la hauteur à maturité, le nombre de talles, le rendement des grains, le pourcentage de fertilité et le nombre de panicules par m². Ceci montre qu'on a des groupes de QTLs sur ces chromosomes ; ce qui s'explique par des gènes pléiotropes. Ces résultats corroborent les travaux réalisés par Xiao *et al.*, (1996) et Rahman *et al.*, (2007). Parmi ces QTLs, il existe 9 qui ne sont pas sur gramene et qui peuvent être considérés comme de nouveaux QTLs putatifs. En effet, il s'agit de *gy.11.1* et de *gy.7.1* qui sont liés au rendement des grains sur les chromosomes 11 et 7. Il y a aussi les QTLs *dtf.1.1a* et *dtf.7.1* associés à la date de floraison sur les chromosomes 1 et 7. Quant aux QTLs *pf.1.1* et *pf.7.1*, ils contrôlent le pourcentage de fertilité des panicules sur les chromosomes 1 et 7. Dans cette liste, nous avons enfin un QTL, *ph.7.1b*, qui contrôle la hauteur des plantes à maturité, un QTL, *tn.7.1*, lié au nombre de talles sur le chromosome 7 et un dernier QTL, *pm.7.1b*, contrôlant le nombre de panicule par m² sur le chromosome 7.

Dans ces mêmes conditions environnementales, d'autres auteurs ont détecté d'autres QTLs liés à ces mêmes traits agronomiques. En effet, Marri *et al.*, (2005) ont découvert trois QTLs pour la hauteur des plantes : deux sur le chromosome 1 et un autre sur le chromosome 9. Ils ont aussi découvert deux QTLs qui contrôlent le nombre de talles sur le chromosome 2

et 5, et enfin deux autres QTLs pour la fertilité des épillets sur les chromosomes 1 et 3. Gutierrez *et al.*, (2010) montrent qu'il existe aussi plusieurs QTLs liés au rendement des grains sur les chromosomes 1, 3, 4, 6 et 9, deux QTLs pour la hauteur des plantes sur les chromosomes 4 et 6 et un QTL pour le nombre de talles sur le chromosome 3.

En condition saline, on distingue 14 QTLs putatifs liés à la tolérance à la salinité sur les chromosomes 1, 2, 7, 10 et 11. Ils contrôlent la hauteur à maturité, le pourcentage de fertilité des panicules, le nombre de talles, la date de floraison et le nombre de panicule par m². Des auteurs ont découvert des QTLs liés à la tolérance à la salinité et associés à d'autres traits sur ces mêmes chromosomes. Ainsi, sur le chromosome 7, divers QTLs ont été répertoriés. Nous avons ceux associés à la concentration de K⁺ sur les racines et sur les pousses, ceux associés aux poids sec et au poids frais, à la hauteur des semis et à la surface foliaire (Lin *et al.*, 2004 ; Kim *et al.*, 2009). Par ailleurs, Islam *et al* (2011) ont découvert 3 QTLs avec un LOD élevé sur le chromosome 10. Ils ont montré que la partie distale du chromosome 1 du riz est une région importante du génome pour la tolérance à la salinité.

Par contre, en condition de saline, il existe des QTLs sur le chromosome 10, mais il n'y a pas de QTLs liés au rendement des grains. Ainsi, plusieurs QTLs sont concentrés sur un même chromosome, notamment les chromosomes 7 et 10. Si on compare les QTLs identifiés dans les deux conditions expérimentales, on constate l'existence de QTLs présents dans les deux milieux comme les QTLs situés sur le chromosome 7. Selon De Vienne et Causes (1998), ces QTLs sont appelés QTLs généralistes, contrairement à ceux qui ne sont présents que dans certains lieux et qui sont dit spécialistes.

En outre, en condition de stress salin, des QTLs sont identifiés sur le chromosome 10 alors que le nombre de QTLs sur le chromosome 1 diminue. Ce qui montre que l'environnement est un facteur essentiel qui peut avoir une incidence importante sur l'effet des QTLs, lesquels peuvent apparaître ou disparaître, ou avoir des effets différents, en fonction des lieux. Environ, 30% des QTLs identifiés présenteraient une interaction avec l'environnement, et, si les différences entre les conditions environnementales augmentaient, ce pourcentage pourrait évoluer (Asins, 2002).

Même si Hasawi a un phénotype inférieur à Sahel 108, il constitue 77,77% des allèles pour les nouveaux QTLs en condition non saline alors qu'en condition saline, il intervient à 28,57%. Cela montre qu'en condition de salinité, Sahel 108, avec un phénotype sensible, augmente la puissance des QTLs liés à la tolérance à la salinité. En effet, le nombre de QTLs liés à l'introgession de Hasawi pourrait être sous-estimé en raison de certaines régions chromosomiques qui abritent certaines introgressions mineures d'Hasawi qui n'auraient pas été détectées avec les marqueurs utilisés.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude montre l'impact négatif de la salinité sur le rendement, d'où la nécessité de créer de nouvelles variétés pour faire face aux besoins croissants de l'humanité. Cela nous a conduit à utiliser 70 marqueurs moléculaires aboutissant à la cartographie de 17 QTLs. Parmi ces derniers, les 9 qui ne sont pas présents sur gramene sont considérés comme de nouveaux QTLs putatifs en condition de non stress. En revanche, en condition de stress, nous avons 15 nouveaux QTLs putatifs. Ces QTLs sont liés aux traits agronomiques comme la hauteur des plantes à maturité, le nombre de talle, le pourcentage de fertilité des panicules, le nombre de panicule par m² et enfin le rendement des grains qui existent seulement en condition de non stress. Les QTLs sont localisés sur les chromosomes 1, 2, 7, 10 et 11. Ils sont robustes car obtenus avec 10 000 permutations et 4 itérations. Les résultats de cette étude tendent à montrer que les caractères quantitatifs seraient contrôlés par de nombreux QTLs à effets faibles, finement liés et dont l'expression dépendrait en partie de l'environnement et d'interactions épistasiques.

La connaissance des QTLs permet de mieux connaître le fonctionnement du génome. Elle est également importante en sélection, car, avec l'utilisation des techniques d'introgession, les QTLs peuvent contribuer à l'amélioration des variétés et permettre d'identifier des génotypes et de gagner du temps. Ils peuvent aussi renseigner sur le milieu, étant donné que certains s'expriment dans certaines conditions environnementales. Dans le cas de notre étude, certains QTLs peuvent être exploités en sélection car l'utilisation novatrice des cartes et des marqueurs moléculaires peut modifier la façon dont les généticiens utilisent le germoplasme sauvage et exotique.

Les QTLs liés à la tolérance à la salinité, qui contrôlent la hauteur, le tallage, le nombre de panicules par m² et le pourcentage de fertilité des panicules, peuvent être introgressés dans une population par des rétrocroisements, d'autant plus qu'ils contrôlent des caractères héréditaires. La position du QTL peut être exploitée car le transfert de la région d'intérêt peut être contrôlé en utilisant les marqueurs bordant le QTL. Cette étude a aussi montré que, même si Sahel 108 a un phénotype sensible, il possède des gènes qui augmentent la tolérance à la salinité : donc il peut être utile en sélection.

Cependant l'identification des QTLs présente des limites. Assurément, la précision des QTL nécessite une saturation du génome par des marqueurs polymorphes. Ce qui montre aussi que l'existence de bons marqueurs est indispensable de même qu'un génotypage adéquat et des parents qui présentent un polymorphisme pour les marqueurs. En d'autres termes, le choix doit être porté sur des parents qui ne possèdent pas un ancêtre commun.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographique

- Apse M.P., Blumwald E. (2007). Na⁺ transport in plants. FEBS Lett. **581**: 2247-2254.
- Asins M. (2002). Present and future of quantitative trait locus analysis in plant breeding. Plant Breed. **121**: 281-291.
- Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'ouest (ADRAO). (1995). Formation en production rizicole, manuel du formateur ; Editeur Sayce publishing. Royaume Uni. 350p.
- Blumwald E., Grover A. and Good A. G. (2004). Breeding for abiotic stress resistance: challenges and opportunities. New directions for a diverse planet. Dans Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, 26 September – 1 October.
- Bonilla P. S., Dvorak J., Mackill D., Deal K. and Gregorio G. B. (2002). RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines. The Philippines Agric. Sci. **85**: 64-74.
- Borsani O., Valpuesta V., Botella M. A. (2003). Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach. Plant Cell Tissue Organ Cult. **73**: 101-115.
- Bot A., Nachtergaele F. and Young A. (2000). Land resource potential and constraints at regional and country levels. World Soil Resources Report N° 90. Rome: FAO of UN.
- Botstein D., White R. L., Skolnick M., Dvies R. W. (1980). Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. Am. J. Hum.Genet. **32**: 314-331.
- Ceuppens J., Wopereis M. C. S. (1999). Impact of non drained irrigated rice cropping on soil salinization in the Senegal River Delta. Geoderma. **92**: 125-140.
- Chen H., Jiang J. G. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. Environ. Rev. **18**: 309-319.
- Chen S., Li J., Wang S., Huttermann A., Altman A. (2001). Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl. Trees. **15** : 186-194.
- Courtois B. (2007). Une brève histoire du riz et de son amélioration génétique. Cirad, France, 13 p.
- De Vienne D. and Causse M. (1998). Les marqueurs moléculaires en génétique et Biotechnologies végétales, INRA éditions, Nancy.
- Eagles H. A., Bariana H S., Ogonnaya F. C., Rebetzke G. J., Hollamby G. J., Henry R. J., Henschke P. H. and Carter M. (2001). Implementation of markers in Australian wheat breeding. Aust. J. Agric. Res. **52**: 1349-1356.

- Flowers T. J., Koyama M. L., Flowers S. A., Sudhakar C., Singh K. P., Yeo A. R. (2000). QTL: their place in engineering tolerance of rice to salinity. *J. Exp. Bot.* **51**: 99-106.
- Gong J. M., He P., Qian Q., Shen L. S. and Zhu L. H. (1999). Identification of salt tolerance QTL in rice (*Oryza sativa* L.). *China Sci. Bull.* **44**: 68-71.
- Gregorio G. B. and Senadhira D. (1993). Genetics analysis of salinity tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.). *Theor. Appl. Gen.* **86**: 333-338.
- Gregorio G. B., Senadhira D., Mendoza R. D., Manigbas N. L., Roxas J. P. and Guerta C. Q. (2002). Progress in breeding for salinity tolerance and other abiotic associated stresses in rice. *Field Crops Res.* **76**: 91-101.
- Gutiérrez A. G., Carabalí S. J., Giraldo O. X., Martínez C. P., Correa F., Prado G., Tohme J. and Lorieux M. (2010). Identification of a Rice stripe necrosis virus *resistance* locus and yield component QTLs using *Oryza sativa* × *O. glaberrima* introgression lines. *BMC Plant Biology.* **10**: 6.
- Hasegawa P. M., Bressan R. A., Zhu J. K., Bohnert H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **51**: 463-499.
- Hoekstra F. A., Golovina E. A., Buitink J. (2001). Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* **6**: 431-438.
- Islam M. R., Salam M. A., Hassan L., Collard B. C. Y., Singh R. K. and Gregorio G. B. (2011). QTL mapping for salinity tolerance at seedling stage in rice. *Emir. J. Food Agric.* **23**: 137-146.
- Jansen R. C. (1993). Interval mapping of multiple quantitative trait loci. *Theor. Appl. Genet.* **79**: 583-592.
- Kim D. M., Ju H. G., Kwon T. R., Oh C. S., and Ahn S. N. (2009). Mapping QTLs for salt tolerance in an introgression line population between japonica cultivars in rice. *J. Crop Sci. Biotech.* **12**: 121-128.
- Kovda V. A. (1983). Loss of productive land due to salinization. *Ambio.* **12**: 91-93.
- Koyama M. L., Levesley A., Koebner R. M. D., Flowers T. J. and Yeo A. R. (2001). Quantitative trait loci for component physiological traits determining salt tolerance in rice. *Plant Physiol.* **125**: 406-422.
- Ksouri R., Megdiche W., Koyro H.W., and Abdelly C. (2010). Responses of halophytes to environmental stresses with special emphasis to salinity. *Adv. Bot. Res.* **53**: 117-145.
- Lacharme M. (2001). Le contrôle de la salinité dans les rizières. *Mémento Technique de Riziculture* 16 pages.
- Lander E. S., Botstein D. (1989). Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics.* **121**: 185-199.
- Lang N. T., Zhikang L. and Bui C. B. (2001). Microsatellite markers linked to salt tolerance in rice. *Omonrice.* **9**: 9-21.

- Langridge P., Lagudah E. S., Holton T. A., Appels R., Sharp P. J., Chalmers K. J. (2001). Trends in genetic and genome analyses in wheat: a review. *Aust. J. Agric. Res.* **52**: 1043-1077.
- Lee S. Y., Ahn J. H., Cha Y. S., Yun D. W., Lee M. C., Ko J. C., Lee K. S., Eun M. Y. (2007). Mapping QTLs related to salinity tolerance of rice at the young seedling stage. *Plant Breed.* **126**: 43-46.
- Lin H. X., Zhu M. Z., Yano M., Gao J. P., Liang Z. W., Su W. A., Hu X. H., Renand Z. H., Chao D. Y. (2004). QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance. *Theor. Appl. Genet.* **108**: 253-260.
- Lin H. X., Yanagihara S., Zhuang J. Y., Senboku T., Zheng K. L. and Yashima S. (1998). Identification of QTL for salt tolerance in rice via molecular markers. *Chinese J. Rice Sci.* **12** (2): 72-78.
- Masood S. M., Yanagihara S., Zabta K., Shinwari, and Rashid A. (2004). Mapping quantitative trait loci (QTLs) for salt tolerance in rice (*Oryza sativa*) using RFLPS. *Pak. J. Bot.* **36** (4): 825-834.
- Marri P. R., Sarla N., Reddy L. V. and Siddiq E. (2005). Identification and mapping of yield and yield related QTLs from an Indian accession of *Oryza rufipogon*. *BMC Genetics.* **6**: 33.
- McCouch S. R., Teytelman L., Xu Y., Lobos K. B., Clare K., Walton M., Fu B., Maghirang R., Li Z., Xing Y., Zhang Q., Kono I., Yano M., Fjellstrom R., De Clerk G., Schneider D., Cartinhour S., Ware D. and Stein L. (2002). Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). *DNA Research.* **9**: 199-207.
- Messedi D., Slama I., Laabidi N., Ghnaya T., Savoure A., Soltani., Abdelly C. (2006). Effect of nitrogen deficiency, salinity and drought on proline metabolism in *Sesuvium portulacastrum*. *Biosaline Agriculture and Salinity Tolerance in Plants.* Pp. 65-72.
- Ming Z. Y., Jian-fei W., Hong-you C., Hu-qu Z., Hong-sheng Z. (2005). Inheritance and QTL mapping of salt tolerance in rice. *Rice Sci.* **12**: 25-32.
- Morgante M., Olivieri A. M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* **3**:175-82.
- Munns R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytol.* **167**: 645-663.
- Murray M. G. and Thompson W. F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* **8**: 4321-4325.
- Noctor G., and Foyer C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**: 249-279.
- Oka H. I. (1991). Genetic diversity of wild and cultivated rice. In: Khush GS and Toenniessen GH (eds) *Rice Biotechnology*. IRRI, Los Baños. pp 55-81.

- Olufowote J., Xu Y. X., Chen X., Park W. D., Beachell H. M., Dilday R. H., Goto M. and McCouch S. R. (1997). Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLPs markers. *Genome*. **40**: 370-378.
- Phillips J. R., Oliver M. J., and Bartels D. (2002). Molecular genetics of desiccation and tolerant systems. Dans *Desiccation and survival in plants: Drying without dying*. Sous la direction de M. Black et H. Pritchard. CAB International, Mol. Gen. Genet.p. 319-341.
- Pitman M. and Läuchli A. (2004). Global impact of salinity and agricultural ecosystems. *Salinity: Environment - Plants – Molecules*. pp 3-20.
- Prasad S. R., Bagali P. G. S., Hittalmani and Shashidhar H. E. (2000). Molecular mapping of quantitative trait loci associated with seedling tolerance to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Curr. Sci.* **78**: 162-164.
- Programme International pour la Technologie et la Recherche en Irrigation et Drainage (IPTRID). (2006). Conférence électronique sur la salinisation: Extension de la salinisation et Stratégies de prévention et réhabilitation. 12 pages.
- Rahman M. L., Chu S. H., CHOI M. S., Qiao Y. L., Jiang W., Piao R., Khanam, S., Cho Y., Jeung J., Jena K. K. and Koh H. J. (2007). Identification of QTLs for some agronomic traits in rice using an introgression line from *Oryza minuta*. *Mol. Cells* **24**: 16-26.
- Sabouri H., Sabouri A. (2008). New evidence of QTLs attributed to salinity tolerance in rice. *African Journal of Biotechnology* . **7**: 4376-4383.
- Sairam R. K., and Tyagi A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr. Sci.* **86**: 407-421.
- Shannon M. C. (1985). Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Plant and Soil* **89**: 227-241.
- Singh R. K., Mishra B. and V. Jetly. (2001). Segregations for alkalinity tolerance in three rice crosses. *SABRAO J.* **33**: 31-34.
- Treuil G., Hossain M. (2004). *Le riz. Enjeux écologiques et économiques*. Belin, Paris France. 265 p.
- Türkan I., and Demiral T. (2009). Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environ. Exp. Bot.* **67**: 2-9.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. (1995). AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* **23**: 4407-4414.
- Wang Y., Nil N. (2000). Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthu tricolor* leaves during salt stress. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* **75**: 623-627.
- Xiao J., Li J., Yuan L. and Tanksley S. D. (1996). Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in recombinant inbred population derived from a subspecific cross. *Theor. Appl. Genet.* **92**: 230-244.

Yamaguchi T., Blumwald E. (2005). Developing salt-tolerant crop plants: challenges and opportunities. *Trends Plant Sci.* **10**: 615-620.

Yeo A. R. and Flowers T. J. (1986). The physiology of salinity tolerance in rice (*O.sativa*) and a pyramiding approach to breeding varieties for saline soils. *Aust. J.Plant Physiol.* **13**: 75-91.

Zhang G. Y., Guo Y., Chen S. L., Chen S. Y. (1995). RFLP tagging of a salt tolerance gene in rice. *Plant Sci.* **110**: 227-234.

Zeng Z. B., (1994) Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* .**136**: 1457-146.

Zhu J. and Meinzer F. C. Efficiency of C4 photosynthesis in *Atriplex lentiformis* under salinity stress. (1999). *Australian Journal of Plant Physiology.* **26**: 79-86.

Webographie

ANDS (agence nationale de statistique et de démographie au Sénégal) 2012 [en ligne] disponible sur http://www.agrisenegal.com/actu_stat_sen.php

Genoscope. Le génome du riz, un sésame pour ceux des autres céréales [en ligne] disponible sur :http://www.genoscope.cns.fr/spip/Oryza-sativa-sesame-desautres.html#sommaire_9

Gramene.[en ligne] disponible sur :<http://www.gramene.org/>

ANNEXES

Annexe 1 : Analyse statistique des paramètres sur un milieu stressé et un milieu normal

variable	G	moy± SE	SD	Max	min	Range	Va	EV	GV	PV	H ²
Hauteur maturité	S	67,58 ±1,94	15,68	106	39	67	245,83	377,41	586,57	963,98	0,61
	C	116,0±2,80	22,56	155	65	90	- 90	90	509	- 509	90
Tallage maturité	S	21,83 ±1,35	10,88	57	5	52	118,41	72,70	8,49	81,20	0,10
	C	16 ± 0,64	5,20	31	6	25	27	-	-	-	-
Date de floraison	S	97,12± 0,94	7,55	107	82	25	56,99	42,99	101,20	144,19	0,70
	C	77 ±0,67	5,39	92	69	23	29	-	-	-	-
Pan/m ²	S	350,7±26,3	212,44	775	50	725	45132,	40345,	229,52	40574,	0,01
	C	381,0±23,3	188,57	950	100	850	35558	-	-	-	-
stérilité	S	71,48 ± 5,26	42,38	100	29	71	1796,4	943,70	700,37	1644,0	0,43
	C	21,63±1,18	9,54	41	4	37	91	-	-	-	-
Grain/pa nicule	S	11,41 ±1,32	10,65	41	0	41	113,49	198,74	171,75	370,49	0,46
	C	37,62±2,09	16,85	75	10	65	284	-	-	-	-
Rendem ent	S	103,1±14,0	113,52	394	0	394	12886,	18521,	12117,6	30639,	0,40
	C	323,3±19,2	155,43	776	32	744	24157	-	-	-	-
Poids 1000 grains	S	21,18 ± 1,49	12,04	25	0	25	144,92	76,46	2,729	79,19	0,03
	C	24,48±0,35	2,83	32	20	12	8	-	-	-	-

Légende :g=groupe ;s=stress ;c=control; moy=moyenne; SE=standard erreur ;SD=standard déviation; max=maximum ;min=minimum ;va=variance ;EV=variance environnemental; GV=variance génotypique ;PV=variance phénotypique; H²=héritabilité; pan/m²=panicule/m²

Annexe 2 : Paramètres agronomiques mesurés en condition de stress

	Hauteur Maturité	Tallage Maturité	Date de Floraison	score	Panicule /m ²	Poids 1000Grain	% stérilité	rendement	grain/panicule
stress	59	35	86	3	500	22	95	42	4
	56	23	86	3	225	23	86	51	10
	84	31	86	3	125	20	95	6	3
	82	12	99	3	175	-	-	-	-
	65	24	99	1	450	22	29	244	25
	43	16	107	3	300	20	37	46	8
	53	27	102	3	475	22	35	206	20
	87	24	107	1	350	24	92	60	7
	105	26	86	3	725	21	64	126	8
	63	34	86	1	625	22	45	373	27
	61	24	86	3	750	25	45	394	21
	103	36	86	1	125	22	91	14	5
	44	24	86	5	425	21	31	366	41
	84	17	102	1	525	25	96	28	2
	106	20	102	1	575	22	93	97	8
	72	21	91	1	575	21	66	281	23
	56	16	86	5	325	-	-	-	-
	80	23	86	3	525	21	49	184	17
	65	14	86	3	350	22	85	58	8
	84	33	95	1	150	20	92	13	4
	60	6	96	5	75		100	0	0
	62	8	86	5	75	-	-	-	-
	70	16	107	1	325	22	93	30	4
	67	8	86	3	50	21	50	8	7
	62	11	102	5	175	-	-	-	-
	93	23	93	3	400	18	70	150	21
	71	12	102	3	275	25	84	52	8
	68	5	102	5	100	21	100	0	0
	49	7	102	3	125	0	100	0	0
	51	18	102	3	350	22	51	67	9
	93	24	82	1	600	20	88	13	1
	70	6	97	3	175	23	100	48	12
	51	35	92	1	200	21	78	31	7
	50	28	92	3	700	22	35	220	14
	39	21	92	1	625	20	84	11	1
	84	23	92	1	500	25	94	48	4
	46	26	94	1	575	21	62	121	10
	42	19	102	3	150	-	-	-	-
	73	22	102	1	775	-	-	-	-
	91	57	92	1	575	-	-	-	-
	63	18	94	3	125	-	-	-	-

Suite annexe 2

	52	53	102	1	225	-	-	-	-
	79	12	106	3	350	-	-	-	-
	72	32	102	3	750	20	68	192	13
	80	14	106	5	150	20	78	13	4
	95	31	91	1	150	25	73	45	12
	69	21	107	1	450	22	54	217	22
	58	33	91	3	225	22	53	106	21
	83	16	107	1	125	-	-	-	-
	67	19	102	3	375	21	70	55	7
	55	14	102	3	300	-	-	-	-
	53	34	102	3	100	-	-	-	-
	57	26	102	3	575	20	74	101	9
	61	13	102	7	75	20	82	3	2
	58	21	106	5	200	20	66	42	11
	74	25	102	1	550	-	-	-	-
	77	16	92	3	525	-	-	-	-
	65	6	95	3	150	20	83	17	6
	67	24	107	1	675	-	-	-	-
	55	7	102	5	100	-	-	-	-
	64	17	106	3	550	-	-	-	-
	69	32	106	3	100	22	59	38	17
	47	14	102	2	200	-	-	-	-
	54	10	107	5	175	25	100	394	41

Annexe 3: Paramètres agronomiques mesurés en condition de non stress

	Hauteur Maturité	Tallage Maturité	Date de Floraison	Panicule /m ²	Poids 1000Grain	% stérilité	rendement	Grain /panicule
Non stress	80	13	81	250	24	33	120	20
	79	22	71	625	22	27	220	16
	130	16	80	300	23	39	97	14
	120	14	78	325	30	32	176	18
	100	10	78	450	22	18	446	45
	89	18	73	250	25	27	256	41
	116	18	79	300	25	9	278	37
	140	22	77	425	24	21	398	39
	150	18	73	325	24	6	289	37
	90	25	76	750	22	20	776	47
	123	21	76	750	25	25	581	31
	133	12	78	250	22	14	198	36
	65	13	70	350	20	18	420	60
	123	11	92	175	20	14	214	61
	137	7	70	150	21	34	32	10
	118	17	79	400	22	11	414	47
	117	15	70	225	29	7	411	63
	125	19	71	525	21	39	187	17
	104	11	70	350	24	15	370	44
	135	13	70	250	25	23	100	16
	129	11	76	300	30	19	378	42
	120	18	72	525	28	25	338	23
	75	6	79	250	21	25	168	32
	103	19	73	300	23	24	352	51
	110	10	70	250	25	9	144	23
	129	13	80	475	22	31	355	34
	97	14	79	250	23	17	293	51
	87	17	76	250	24	23	102	17
	93	16	76	150	25	8	165	44
	114	18	69	600	22	12	370	28
	126	14	78	200	25	24	105	21
	141	12	78	950	21	22	519	26
	78	26	78	700	22	35	216	14
	79	21	79	625	22	16	344	25

Suite annexe 3

	78	18	79	200	21	26	118	28
	120	11	72	300	20	36	138	23
	79	14	71	200	26	10	385	74
	120	11	90	175	31	28	293	54
	149	14	69	150	27	25	247	61
	120	14	79	200	27	17	346	64
	130	18	69	700	29	30	568	28
	97	24	83	375	29	8	381	35
	120	14	71	275	27	21	252	34
	132	18	71	275	23	15	474	75
	98	14	79	200	22	5	312	71
	122	20	79	375	22	37	297	36
	125	22	78	450	22	24	257	26
	91	25	81	375	21	39	189	24
	145	14	78	575	28	30	451	28
	98	26	92	500	24	31	324	27
	152	17	81	500	32	28	432	27
	122	13	79	250	27	15	257	38
	127	20	69	775	25	24	349	18
	129	6	73	100	23	28	69	30
	92	11	91	250	24	19	276	46
	110	31	74	550	27	24	624	42
	136	15	79	375	27	12	253	25
	127	17	81	375	25	8	609	65
	125	14	73	475	28	18	466	35
	110	23	79	350	26	20	400	44
	150	9	73	350	29	7	589	58
	155	6	79	850	22	41	468	25
	137	16	78	300	25	20	435	58
	149	16	81	325	29	31	254	27