UNIVERSITE D'ANTANANARIVO

ECOLE DOCTORALE AGRICULTURE- ELEVAGE-ENVIRONNEMENT

THESE

Pour l'obtention du Diplôme de **Doctorat en Sciences Agronomiques**

Sélection, identification et évaluation des lignées de riz pluvial dans un milieu déficient en Phosphore

Par

RANAIVO Harisoa Nicole

Soutenue le devant le jury composé de

		Président du jury
Harilala ANDRIAMANIRAKA	Professeur titulaire ESSA-Université d'Antananarivo	**Rapporteur**
Tendro RADANIELINA	Professeur titulaire Faculté des Sciences- Université d'Antananarivo	**Rapporteur**
Volatsara RAHETLAH	Docteur HDR ESSA- Université d'Antananarivo	**Examinateur**
Noronirina Victorine RAKOTOARISOA	Professeur Titulaire, Faculté des Sciences- Université d'Antananarivo	**Examinateur**
Tantely RAZAFIMBELO	Professeur titulaire, LRI-Université d'Antananarivo	**Directeur de thèse**
Matthias WISSUWA	Professeur titulaire Université de Bonn	**Co-directeur de thèse**
Landiarimisa RAMANANKAJA	PHD ESSA-Université d'Antananarivo	**Encadrant**

Give thanks to the Lord for He is good.

HIS LOVE ENDURES FOREVER!

REMERCIEMENTS

Mon Dieu, nous y sommes arrivés ! je te remercie pour tout ce que tu m'as appris dans ce parcours inoubliable de ma vie. Merci pour les épreuves, ainsi que les miracles. Je ne pourrais jamais lister les détails, mais ce livre en est la preuve.

Au **Projet Fyvary-SATREPS**, Merci au coordonnateur **Dr Tsujimoto-san** pour l'appui technique et financière durant ces 3 années de terrain. Merci pour les matériels qui m'ont permis de réaliser les expérimentations. Merci pour les opportunités de réaliser les expérimentations au Japon, un grand merci également à l'institution de recherche JIRCAS pour l'accueil et les appuis matériels et scientifiques.

Je remercie également mon encadreur, mon superviseur **Pr Matthias Wissuwa**, qui sans lui, cette thèse n'a pas eu lieu. Premièrement, merci pour ton temps et ton dévouement, car ils m'ont été précieux. Deuxièmement, merci pour les cours gratuits, presque en tout ! finalement, tu as toujours voulu la qualité coute que coute, merci pour les disciplines. Je ne te remercierai jamais assez. Merci car c'est toi qui m'as appris la science, ce que c'est d'être une scientifique, les expériences passées avec toi dans le cadre de cette thèse m'ont ouvert l'esprit, scientifique. Merci.

Je m'adresse aussi mes remerciements et gratitudes à mes encadreurs **Pr Tantely Razafimbelo et Dr Landiarimisa Ramanankaja** pour les encadrements ! merci d'avoir été là, merci pour les directives et les conseils, et surtout pour le sang-froid et la patience.

Un grand merci à **Juan-san**, pour tout l'aide et le soutien morale, scientifique et les précieux conseils.

Merci aux personnels de **JIRCAS**, à Mari-San pour les travails acharnés de digestion des plantes, merci beaucoup pour ton aide. Merci également à **Yoshi-san** pour l'appui à la rédaction de l'article scientifique. Merci à **Mari-san**, **Eiko-san**, **Matsuyama-san** et **Nishihara-san** pour l'aide sur les travaux de terrain au Japon.

Une profonde gratitude pour **FOFIFA**, à travers qui le Projet FyVary a pu œuvrer, merci pour les organisations et la facilitation reliées à la réalisation de cette thèse.

Merci également aux **techniciens,** surtout **Rakotoarivelo Nirina Jean Patrick**, **Franck**, **Dadaliva, Ntsoa** et **Anny** pour la collecte de données et les suivis des expérimentations.

Mes remerciements s'adressent é **à mes amis et ma famille** pour leur appui et leur encouragement surtout durant la rédaction de ce livre. *Misaotra Dada sy Mama, Bebe sy Dadabe*. Une profonde gratitude à ma sœur **Sitraka, Sergio et Tefy** pour le support, durant mon parcours. Un grand merci à **Mbolatantely Rakotondramanana** pour ton soutien et ton encouragement durant toutes ces années, surtout durant les moments d'épreuves. Merci de me remonter toujours le moral.

Que Dieu vous bénisse tous !

Tables des matières

Remerciements……i

Tables des matières ……ii

Résumé…… v

Abstract……vi

Liste des figures ……vii

Liste des tableaux ……ix

Liste des annexes……xi

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GENERALE ET ETAT DE L'ART 1

1 Généralités sur le riz et la riziculture 2

1.1 Le riz, la riziculture et son importance **2**

1.1.1 Le riz pluvial 2

1.1.2 Les contraintes de la riziculture pluvial 4

1.2 Le riz pluvial et le phosphore **5**

1.2.1 Le rôle du P chez le riz 5

1.2.2 Le phosphore dans le sol 6

1.2.3 La carence en P chez le riz 7

1.2.4 Les travaux d'amélioration de la disponibilité et l'utilisation du P du sol à Madagascar 8

1.3 Le Riz, Oryza Sativa (L.) **9**

1.4 Adaptation du riz face à la déficience en P dans le sol **10**

1.3.1 Le PAE 11

1.3.2 Le PUE 14

1.5 Le déterminisme génétique du riz face à la tolérance a la déficience en phosphore **15**

1.4.1 Le gène *Pup1* 15

1.4.2 Les QTL liés à la déficience en phosphore 16

1.6 Les travaux de sélection de riz pluvial à Madagascar **17**

1.7 Objectifs et hypothèses **18**

1.8 Méthodologie et plan de la thèse **19**

Chapitre 2 : Sélection des lignées de riz pluvial tolérantes à la déficience en P à Madagascar 21

2.1 Introduction **22**

2.2 Matériel et Méthodes **23**

2.2.1 Expérimentations 23

2.2.2 Collecte de données 27
2.2.3 Analyse statistique 28
2.3 Résultats 28
2.3.1 Caractérisation des parents 28
2.3.2 Evaluation des lignées NDJ 29
2.3.3 Essai de rendement 31
2.3.4 Cycle à la floraison 35
2.4 Discussions 36
3.5.1 Sélection par descendance de variétés de riz pluvial pour les hautes terres de Madagascar 36
3.5.2 Variation de la performance des variétés (cycle et rendement) de riz selon le niveau de fertilité 37
2.5 Importance de la sélection de lignées efficientes en P conclusions 40
Chapitre 3 : Evaluation et caractérisation physiologique des variétés sélectionnées. 42
3.1 Introduction 43
3.2 Matériels el méthodes 44
3.2.1 Expérimentations 44
3.2.2 Analyse de P dans la plante 46
3.2.3 Scannage des racines 46
3.2.4 Analyse statistique 46
3.3 Résultats 46
4.3.1 Evolution de la biomasse et teneur en P 46
4.3.2 Traits racinaires reliés à la performance des variétés 49
4.3.1 Acquisition de P par les variétés et efficience racinaire 52
4.3.2 Utilisation interne de P acquis 54
3.4 Discussions 56
3.5 Conclusions 61
Chapitre 4 : QTL mapping for early root and shoot vigor of upland rice (Oryza sativa L.) under P deficient field conditions in Japan and Madagascar 62
4.1 Résumé de l'article 63
4.2 Introduction 65
4.3 Materials and Methods 66
5.2.1 Plant material 66
5.2.2 Phenotyping experiments 67
5.2.3 Molecular marker detection through restriction site associated DNA sequencing (RAD-seq) 68

5.2.4 Genetic linkage map construction and QTL analysis 69
4.4 Results 69
5.3.1 Phenotypic variation 69
5.3.2 QTL detection 71
5.3.3 QTL interactions and effects in BC1F3 73
4.5 Discussions 75
5.4.1 QTL mapping and confirmation of QTL effects 76
5.4.2 Supporting evidence from other QTL mapping studies 77
4.6 Conclusions 78
Chapitre 5 : Discussions et conclusions Générales 79
5.1 Synthèse des résultats et validation des hypothèses 80
5.2 Des variétés efficientes en P pour Madagascar 82
5.3 Limites et perspectives 84
Références bibliographiques 85
ANNEXES 100

RESUME

La riziculture pluviale est contrainte à un problème majeur qui est la déficience en Phosphore du sol. P est fixée par les hydroxydes de fer et d'aluminium le rendant ainsi peu, voire non disponible pour la plante. Au niveau des sols ferralitiques de Madagascar, P est un facteur limitant de la production rizicole. De nombreuses recherches ont été effectuées pour remédier à ce problème mais aucune étude n'a été faite sur la sélection variétale. L'objectif général de cette étude est de sélectionner puis de caractériser des variétés tolérantes à la déficience en P à Madagascar. Les objectifs spécifiques sont (i) de sélectionner et évaluer les lignées de riz pluvial tolérantes à la déficience en P ; (ii) d'effectuer une étude physiologique des phénotypes qui caractérisent la tolérance de la déficience en P, des variétés sélectionnées et enfin (iii) de déterminer la variation au sein d'une population issue des variétés tolérantes, pour identifier les traits de tolérance potentiels et faire la cartographie QTL. Dans le chapitre 1, le croisement entre DJ123, une variété tolérante à la déficience en P et Nerica4 (N4), une variété non tolérante, de l'Afrique de l'Ouest a donné les lignées NDJ, qui feront l'objet d'une évaluation de performance au niveau d'un sol n'ayant jamais reçu de fertilisation. Sur 10 saisons culturales d'évaluation incluant les essais de rendement, deux variétés tolérantes, nommées V2 et V6 ont été sélectionnées. V2 a eu une différence significative avec N4 en termes de rendement en grain, dont la différence était de 400kg à 1300kg, variant selon les sites. V6, plus performante que N4 en termes de rendement sur sol pauvre (Mais non significatif) était une variété précoce, dont la différence de cycle a la floraison (CAF) avec N4 était de 31jours au maximum. Dans le chapitre 2 qui décrit les traits physiologiques liés à la tolérance des variétés face à la déficience en P, V2 a acquis significativement plus de P que N4 au niveau d'un sol déficient en P induisant un poids sec de paille (SW) significativement plus importante que N4 malgré leurs similarités en termes de traits racinaires, sauf pour le nombre de CR. La variété V6 a eu le SW la plus élevée en 28 jours après semis (DAS), ce qui implique une quantité importante de racines de type-S et de nombre totale de racines ou TIPS. Dans le chapitre 3, 10QTLS, liés aux traits nombre de CR (RN), SW, poids sec racinaire (RW) et poids sec total (TW) ont été identifiés à travers les lignées BC1F3. L'efficience en P de DJ123 a été transmis aux descendants grâce aux QTLs qPeF9 et qPef9-2. Ces deux QTls ont été confirmés au Japon et à Madagascar, au niveau des lignées BC1F5. qPef9-2 a augmenté le SW de 46% en 70DAS. Il a été prouvé à travers ces résultats que le donneur DJ a transmis ses traits d'efficience en P à ses descendants. V2 et V6 sont des variétés potentielles qui seront homologuées en tant que variétés tolérantes à la déficience en P pour Madagascar.

Mots clés :QTL, efficience en P, biomasse, DJ123, racine, acquisition de P

ABSTRACT

Upland rice is constrained by a major problem, which is phosphorus (P) deficiency. P is fixed by iron and aluminum hydroxides making it not available for the plant. P is a limiting factor in rice production, under the tropical weathered soils of Madagascar. Many researches have been done to face P deficiency but no studies have been done on varietal selection in Madagascar. The overall objective of this study is to select and characterize P-deficiency tolerant varieties in Madagascar. The specific objectives are (i) to select and evaluate P-deficiency tolerant rainfed rice lines; (ii) to conduct a physiological study of the phenotypes that characterize the tolerance of P deficiency, the selected varieties and finally (iii) to determine the variation within a population from the tolerant varieties, to identify potential tolerance traits and to make QTL mapping. In the Chapter 1, the cross between DJ123, a P tolerant variety and Nerica4 (N4), a non-tolerant variety, from West Africa resulted the NDJ lines, in which the performance will be evaluated under a soil that has never received fertilization. Over 10 seasons, including yield trials, two tolerant varieties, V2 and V6, were selected. V2 had a significant difference with N4 in terms of grain yield, the difference was 400kg to 1300kg, varying according the site of experiments. V6, which was more efficient than N4 in terms of yield on poor soil (but not significant) was an early variety, in which, difference in terms of days to heading with N4 was 31 days in maximum. In Chapter 2, which describes the related traits to P deficiency tolerance, V2 acquired significantly more P than N4 under P deficient soil, inducing a larger shoot dry weight (SW) than N4 despite their similarities in terms of root traits, except in terms of crown root number (RN). V6 had the highest SW in 28 days after sowing (DAS), related to a significant number of S-type roots and total root count or TIPS. In Chapter 3, 10QTLS, related to the traits RN, SW, root dry weight (RW) and total dry weight (TW), were identified across BC1F3 lineages. The P-efficient character of DJ123 was inherited by its descendants, through the two QTLS qPeF9 and qPef9-2. These two QTls have been confirmed in Japan and Madagascar, at the BC1F5 level. qPef9-2 increased SW by 46% in 70DAS. It has been proven through these results that the donor DJ123 has transmitted traits, related to P efficiency to V2 and V6. Those new varieties are potential to be released and registered as P-deficiency tolerant varieties for Madagascar.

Keywords :QTL, P efficiency, biomass, DJ123, roots, P uptake

Liste des figures

Figure 1: Superficie réelle de riz pluvial récoltée au niveau national. Les pays de couleur grise ne sont pas inclus. Source des données pour l'Afrique : Diagne et al. (2013). 3

Figure 2: Représentation qualitative générale de la disponibilité du phosphore dans le sol influencé par le pH. Redessiné par (Price, 2006) 7

Figure 3: Symptômes de carence en NPK au niveau des feuilles du riz (Chen et al., 2014) 8

Figure 4: Représentation schématique des mécanismes possibles d'acquisition et d'utilisation du phosphore pour une meilleure croissance des cultures modernes cultivées dans des systèmes de culture intensive 11

Figure 5: Système racinaire du riz. (a) Morphologie du plant de riz, 2–4 jours après la germination. (b) Morphologie d'un plant de riz de 60 jours, montrant le système racinaire fibreux . De nombreuses racines de couronne se développent à partir des nœuds de la tige. 12

Figure 6: Dispositif expérimental de l'essai de rendement 2020-2021 (REP= Répétition) 26

Figure 7: *Dispositif expérimental de l'essai de rendement 2021-2022* 27

Figure 8: Caractérisation des parents DJ123 (bâton bleu) et N4 (bâton Orange). 29

Figure 9: Evaluation des lignées NDJ, en génération F6 selon les traits Cycle (A) et (B) poids sec de panicule par plante. 30

Figure 10: Evaluation des lignées NDJ (Génération F8), selon le rendement (B) et le cycle (A) durant la saison culturale 2019-2020. Les bâtons en rouges représentent les variétés/lignées sélectionnées. 32

Figure 11: Courbe de tendance de rendement des variétés V1, V2, V6 et N4 selon la fertilisation et les sites, pour les saisons culturales (2020-2021 et 2021-2022). 33

Figure 12: Variation du rendement par site (A) et par génotype (B) pour la saison culturale 2020-2021. (ANOVA, avec seuil de significativité P<0.05, Comparaison par multiple, Test de Tukey, Alpha=0.05, ou les groupes a et b sont différents significativement) 33

Figure 13: Variation du rendement pour la saison culturale (2021-2022). 34

Figure 14: comparaison du rendement entre les traitements et les génotypes pour les deux sites AT1 et AZ 34

Figure 15: Variation du cycle à la floraison selon la variété et les sites. 35

Figure 16: Résumé de l'étape de la sélection par descendances des lignées NDJ. 37

Figure 17: Evolution du poids sec et de la teneur en P de la paille par plante des 4 variétés, N4, V2, V6 et DJ123 suivant le nombre de jours après semis (DAS), **expérimentation au champ**. 47

Figure 18 : Evolution du poids sec et de la teneur en P de la paille par plante des 4 variétés, N4, V2, V6 et DJ123 suivant le nombre de jours après semis (DAS), **expérimentation en pot**. 48

Figure 19: Répartition des traits racinaires des 4 variétés N4, V2, V6 et DJ123 selon la taille des racines 50

Figure 20: Proportion des classes racinaires pour les variétés DJ, N4, V2 et V6 selon 28DAS et 37DAS. semis..... 51

Figure 21: Evolution de l'acquisition de P et de la RSA par jour, des quatre variétés DJ, N4, V2 et V6. 53

Figure 22:Efficience racinaire (RE) journalier des quatre variétés DJ, N4, V2 et V6. RE= Pup/RSA*100.... 54

Figure 23: Comparaison des biomasses aériennes et racinaires, et ratio Racine/Paille des quatre variétés DJ, N4, V2 et V6..... 55

Figure 24: Evaluation de la PUE (Utilisation interne de P), au niveau de la racine (PUE-R), de la paille (PUE-S) et totale (PUE-tot). Les barres ne partageant pas de lettre(s) identique(s) sont significativement différentes les unes des autres (test HSD, P ≤ 0,05). 55

Figure 25: Phenotypic variation in parental genotypes DJ123, Nerica4, and NDJ188 grown under P deficient conditions. 70

Figure 26: Frequency distribution of 201 BC1F3 lines for root number, shoot weight, root weight and total weight from a field experiment on low-P soil conducted at JIRCAS, Tsukuba, Japan in 2020. Arrows indicate the phenotypic values of parents (DJ123, Nerica4 and NDJ188)..... 71

Figure 27: Chromosomal positions of the QTL detected in the BC1F3 population. Genetic distance and name for each marker are shown for chromosomes 1, 2, 6, 8, and 9..... 72

Figure 28: Confirmation of the QTL qPef9-2 and qPef9 on shoot weight trait in Madagascar at 90 DAS. Solid green lines point to the effect having AA alleles at qPef9-2 compared to either the BB alleles in BC1F5 lines or to recurrent parent Nerica4. Dotted orange lines point to the effects of having AA alleles at qPef9, compared to BB alleles or parent Nerica4. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, Tukey's HSD test). 75

Liste des tableaux

Tableau 1: Relation entre les traits racinaires et leurs rôles dans l'acquisition du P dans la solution du sol 13

Tableau 2: Liste des QTL liés à la tolérance a la déficience en P, identifiés liés par les autres auteurs 16

Tableau 3: Caractéristiques des sites expérimentaux, pour l'essai de rendement 2020-2021 (NA : Analyse de sol non- effectué, AZ est le diminutif de Ankazomiriotra, AT est le diminutif d'Antohobe) 25

Tableau 4: Caractéristiques des sites expérimentaux pendant la saison culturale 2021-2022 26

Tableau 5: Comparaison des traits racinaires entre les variétés selon la date d'échantillonnage et le type d'expérimentation. 49

Tableau 6: Putative QTL for root number and biomass traits based on phenotypic data generated for the BC1F3 population from a field experiment conducted on highly P deficient soil in Japan. 72

Tableau 7: Effect of the positive alleles at detected QTL on average phenotypic values of selected homozygote lines in the BC1F5 generation. Percent values indicate the difference between AA (DJ123) and BB (Nerica4) genotypic classes, using flanking markers of Fig. 3 to define QTL positions (corresponding markers in the BC1F5 are shown in **Annexe 16**). Traits highlighted in bold print are those for which a particular QTL had been identified in the BC1F3. 74

Liste des annexes

Annexe 1: Liste et description des variétés homologuées par FOFIFA-CIRAD au niveau des hautes terres de Madagascar 100

Annexe 2 : Quelques caractéristiques des 18 variétés de riz NERICA de plateau homologuées ou adoptées dans certains pays d'Afrique subsaharienne 100

Annexe 3 : Sélection des variétés plus performantes que le parents et les variétés témoins (2018-2019) 101

Annexe 4 : Résultats sur l'ANOVA, essai de rendement sur les sites AT1 et AZ (Traitement Zéro) 101

Annexe 5: Evolution du poids sec total et racinaire et de la teneur en P par plante des 4 variétés, N4, V2, V6 et DJ123 suivant le nombre de jours après germination (DAG). 102

Annexe 6 : Répartition des TIPS des 4 variétés N4, V2, V6 et DJ123 selon la taille des racines. 103

Annexe 7 : Courbe de tendance sur l'évolution journalière de RSA et RE, expérimentation en pot. 103

Annexe 8: ANOVA sur l'acquisition de P Et efficience racinaire 104

Annexe 9 : Variation de la concentration en P au niveau de la paille et de la racine 104

Annexe 10 (Suppl.Fig. S1) : Linkage map based on 222 SNP markers in the BC1F3 population derived from a backcross of NDJ188 to recurrent parent Nerica4. Genetic distance and name for each marker are shown. 105

Annexe 11 (Suppl.Fig. S2) : LOD peak curves for QTL detected on chromosome 9 for traits RN, RW, SW, TW based on the analysis conducted in PLABQTL 106

Annexe 12 (**Suppl.Tab.S1**): Pearson's correlation coefficient for traits RN, RW, SW and TW (n = 201). 106

Annexe 13 (Suppl.Tab.S2): Two-way interaction between the two QTL identified for RN in the BC1F3 population. 107

Annexe 14: (Suppl.Tab S3) Two-way interaction between the two QTL identified for RW in the BC1F3 population 107

Annexe 15 (Supp.Tab S4) : Two-way interaction between the three QTL identified for shoot and total biomass in the BC1F3 population 108

Annexe 16 (**Suppl.Table S5):** Marker alignment for BC1F3 and BC1F5 generations for the QTL identified on chromosome 9. The alignment used the Nipponbare reference genome, whereas initial marker detection was based on sequence alignments with an in-house DJ123 genome assembly (BC1F3) or the publicly available Azucena genome assembly (BC1F5). 109

Liste des abréviations

AND ou DNA:	Acide désoxy-ribonucleique
Anova :	Analyse de variance (Analysis of variance)
ASS :	Afrique Sub-saharienne
CAF	Cycle a la Floraison
CIRAD :	Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CR	Racine couronne
EC :	Experimentation au champ
EP:	Experimentation en pot
FAO :	Food and Agricultural Organization
FOFIFA :	Foibem-pirenena momba ny fikarohana ampiharina amin'ny fampandrosoana ny ambany vohitra
HTC	Hautes Terres Centrales
IRD :	Institut de Recherche pour le Développement
LRI :	Laboratoire des Radio Isotopes
MO :	Matières organiques
Ng :	Nanogrammes
P :	Phosphore
PAE :	Efficience d'Acquisition en Phosphore
Pc :	Teneur en Phosphore
PDW :	Poids secs de panicule
PIB :	Produit Intérieur Brut
PUE :	Efficience d'Utilisation en Phosphore
Pup :	Quantité de Phosphore acquis par la plante
QTL :	Quantitative Trait Loci
RE :	Efficience Racinaire
RN :	Nombre de racine couronne
RW :	Poids sec de la racine
SW :	Poids sec de la paille

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GENERALE ET ETAT DE L'ART

1 Généralités sur le riz et la riziculture

1.1 Le riz, la riziculture et son importance

Suite à l'accroissement de la population, la demande alimentaire devrait augmenter de 59 à 98 % d'ici 2050 (Elferink and Schierhorn 2016). Or, 23 à 25% du total des calories consommées par les humains proviennent de la consommation de riz seul (Ashikari and Ma 2015 ; Yu et al. 2020). Actuellement, le riz est cultivé sur 166 millions d'hectares dans le monde, assurant l'alimentation de quelque quatre milliards de personnes dans le monde, et la récolte annuelle de riz vaut ~ 200 milliards USD (GRiSP, 2013). Le riz est la principale culture céréalière en Asie, où 90% du riz mondial est produit et consommé (Frei and Becker 2005 ; Molden, 2013). Toutefois, le riz gagne de popularité au niveau de l'Afrique Sub-Saharienne (ASS) représentant 38% des surfaces rizicoles mondiales (Balasubramanian et al., 2007 ; Saito et al., 2018). La riziculture est généralement classée en quatre types, qui sont : la riziculture irriguée, la riziculture pluviale de bas fond, le riz flottant, et enfin la riziculture pluviale des plateaux (Poehlman et al. 1995). La riziculture irriguée est la plus répandue, représentant 75% de la production mondiale. Cela est partiellement expliquée par le fait que l'écosystème est très favorable au riz, grâce aux techniques d'irrigation-drainage, qui limitent le stress abiotique. L'application de beaucoup de fertilisants, minérales qu'organiques est plus courant en riziculture irriguée que pour les autres types de riziculture. (Khush et al., 1997). A Madagascar, le riz est le principal produit cultivé par la majorité des ménages ruraux, la superficie rizicole est estimée à environ 1 450 000 hectares dont 78.8% en riz aquatique, 8.4% en riz pluvial et 12,9% en culture sur brûlis selon le Ministère de l'agriculture en 2017. En 2001, le riz seul assurait 32% du revenu des ménages ruraux à Madagascar, alors qu'en 2012, l'importance du riz a augmenté, le riz représentait une part de plus en plus importante, représentant 42% des revenus (Randrianarison, 2015). Les Hautes Terres centrales (HTC) de Madagascar seules, génèrent 36 %, la production rizicole nationale (UPDR/FAO, 2001). Malgré que le pourcentage de la riziculture pluviale soit moindre, elle gagne de la place au niveau des HTC grâce à l'introduction de nouvelles variétés de riz pluvial, par CIRAD et FOFIFA (Raboin et al., 2013).

1.1.1 Le riz pluvial

À l'échelle mondiale, un tiers de la superficie rizicole totale est cultivé sur des sols très pauvres, dont 25,6 millions d'hectares de rizières irriguées, 18,5 millions d'hectares de bas fond pluviales et 7,5 millions d'hectares de riz pluvial. Le riz pluvial (ou riz de tanety ou riz plateau) est cultivé sur les collines, au niveau des champs et dépend exclusivement des eaux de pluies (Poehlman et al., 1995). En Asie et en Afrique, les cultivateurs de riz pluvial sont parmi les plus pauvres du monde et leurs exploitations ont

souvent une superficie inférieure à 0,5 ha (Moncada et al.,2001). Des statistiques récentes provenant de 71 pays d'Asie, d'Amérique latine et d'Afrique subsaharienne montrent que le riz de bas-fond et pluvial représentent respectivement 92 et 8% de la superficie totale de la riziculture (Fig.1). Mais généralement, le riz pluvial est cultivé dans des systèmes où l'application d'engrais est moindre, voire néant, et dont le semis est directement dans un sol non flasque et non saturé (Altin et al., 2004). Pour le cas de Madagascar, 8.4% de la superficie rizicole est occupée par le riz de plateau , dont selon la figure 1, la superficie est classée entre 10 000 à 100 000ha . La variété la plus populaire de riz pluvial est Chhomorong Dhan (CD), avec un taux d'adoption par les agriculteurs de 80%, au niveau des HTC (Raboin et al.,2013). CD est une variété tolérante au froid, qui s'adapte aux conditions où l'altitude est plus de 1500m. Grâce aux travaux de sélection et l'introduction des nouvelles variétés de riz pluvial au niveau des Hautes terres Centrales de Madagascar (HTC), Le riz pluvial est devenu un complément essentiel au riz irrigué pour les petits exploitants agricoles des hautes terres. Son adoption auprès des agriculteurs malagasy, a permis l'augmentation significative de la production rizicole (Breumier et al., 2018).

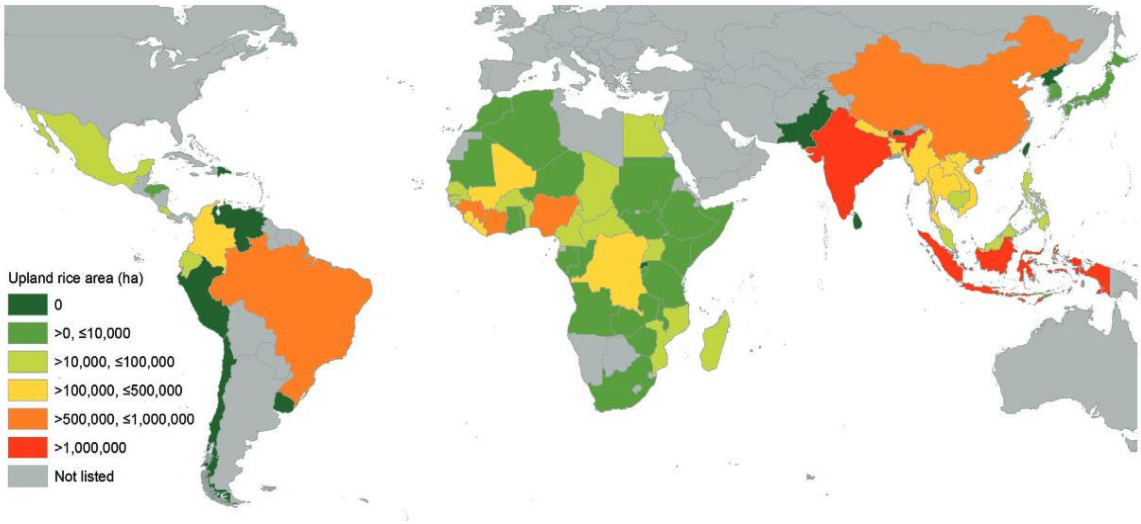


Figure 1(d'Apres Saito et al, 2018) : Superficie réelle de riz pluvial récoltée au niveau national. Les pays de couleur grise ne sont pas inclus. Source des données pour l'Afrique : Diagne et al. (2013). En 2009, les moyennes et les proportions prévues de la superficie rizicole pluvial, par rapport à la superficie totale de riz ont été multipliées par la superficie totale de riz récoltée (FaoStat, 2012). Source des données pour l'Asie : Évaluation stratégique de l'IRI (IRRI, 2013). Les estimations de la superficie rizicole des hautes terres ont été combinées à partir des meilleures sources disponibles pour chaque pays. Les données régionales pour chaque pays ont été moyennées sur la période 2001-2010 lorsqu'elles étaient disponibles et ajustées pour correspondre aux totaux des comtés de FaoStat pour 2008-2010. Source de données pour l'Amérique latine : enquête du questionnaire des agriculteurs en 2016 (Graterol & orrego, 2017).

1.1.2 Les contraintes de la riziculture pluvial

La dégradation de l'environnement, y compris la pollution, le réchauffement climatique, des réductions des terres arables, l'eau, la main-d'œuvre et les engrais énergivores sont des contraintes non-négligeables de la riziculture (Peng et al.,2004). Pour le cas de la riziculture pluviale, le rendement moyen est de 0,5 à 1t.ha-1 en Afrique (ADRAO, 2008). A Madagascar, le rendement du riz pluvial varie d'une région à une autre. Au niveau des HTC, dans la région de Vakinankaratra, le rendement moyen est de 2.5t.ha^{-1} selon Penot et al en 2011, toutefois, dans d'autres zones faisant partie de cette même région, le rendement du riz pluvial varie de 0.4t.ha-1 à 2t.ha-1. Cette variation peut être expliquée par la variation du sol, ainsi que les pratiques culturales des agriculteurs. En général, la production augmente grâce à soit l'amélioration du rendement, soit à l'extension des terres. Pour Madagascar, l'expansion des rizières est presque impossible en raison de la saturation des bas-fonds, ainsi que l'augmentation de la population, tandis que la surface exploitée en riz pluvial est faible bien qu'elle constitue une alternative pour augmenter la production rizicole. En outre, l'adoption des techniques améliorées pour l'amélioration du rendement est restée à un faible niveau en raison de contraintes de fond en infrastructures (Moser and Barrett, 2003 ; Minten, Randrianarisoa, and Barrett ,2007; Harvey et al.,2014) mais aussi la non-adoption des riziculteurs. De plus, d'après le Ministère de l'Agriculture et de l'élevage, 98,7% des semences utilisées est de type traditionnel dont le rendement est faible et le cycle est assez long. Mis à part ces contraintes, le faible rendement du riz pluvial est aussi dû à des contraintes abiotiques et biotiques. Les contraintes biotiques, limitant la production du riz pluvial regroupent l'attaque des insectes, notamment les vers blancs ; la pullulation des maladies à l'occurrence la pyriculariose (Raboin et al., 2013) ; et le ravage des plantes adventices, notamment le *striga*[1] (ADRAO, 2008), dont le non-maitrise a découragé d'innombrables riziculteurs, induisant l'abandon de la riziculture pluviale dans les HTC de Madagascar (Penot et al., 2011). Pour le s stress abiotiques, le froid, la sècheresse ainsi que la faible fertilité du sol attaquent le riz au niveau des hautes terres de Madagascar (Raboin et al., 2013). Au niveau des sols tropicaux, le rendement faible du riz est souvent expliqué par la faible fertilité du sol, notamment le non/faible disponibilité du P (Sanchez et Salinas, 1981). Etant dans la famille des graminées le riz a besoin du P pour la production de biomasse et de grains. Les problèmes les plus courants dans les rizières sont un très faible apport intrinsèque en éléments nutritifs (35,8 millions d'hectares), un pH très bas (27,1 millions d'hectares) et une fixation élevée du phosphore (8,1 millions d'hectares). Au niveau des pays tropicaux, la carence en P est un stress majeur (Dogbe et al., 2015 ; Saito et al., 2019) causée par sa faible mobilité dans les sols car

[1] Plante adventice parasite des graminées, venant de l'Afrique de l'Est

le phosphore se lie rapidement en conséquence des réactions de fixation/adsorption avec l'hydroxyde de Fer et d'Aluminium dans les sols (Rabeharisoa, 2012 ; Nishigaki et al., 2019). De plus, les flancs des collines présentent des pentes plus ou moins accentuées qui entrainent souvent, une perte de fertilité par érosion faute d'aménagements antiérosifs. La fertilisation en P est une solution pour remédier à ce problème de disponibilité. En effet, l'apport en éléments nutritifs des sols est un facteur clé augmentant la productivité du riz. Toutefois, Il a été confirmé que le rendement du riz en Afrique subsaharienne (ASS), y compris Madagascar, est actuellement faibles à cause des apports limités en engrais. Cependant, e non-disponibilité de P couplé à la faible application de fertilisation est désormais une contrainte majeure de la riziculture pluviale à Madagascar. Il est à noter qu'à Madagascar, le niveau moyen d'application des engrais minéraux est de 5 à 12 kg ha-1 de terres arables par an, ce qui est très faible par rapport aux autres pays, à ne citer que pour les pays du continent asiatique, où les engrais utilisés peuvent aller au-delà de 300kg/ha par an (https://data.worldbank.org/indicator/AG.CON.FERT.ZS). De plus, le coût des engrais chimiques n'est pas à la portée des paysans, en quoi, couplé avec la faible disponibilité de P constitue un problème majeur pour la riziculture pluviale. Bien que l'application des fertilisants chimiques impactent positivement le rendement, son cout économique ne sera plus à la portée des paysans du tiers monde (Denning et al. 2009). De ce fait, le développement des nouvelles lignées de riz pluvial adaptées à ces contextes de faible fertilité des sols et de faible disponibilité d'intrants, notamment le P est très important car, cela pourrait contribuer à l'auto-suffisance en riz à Madagascar.

1.2 Le riz pluvial et le phosphore

1.2.1 Le rôle du P chez le riz

P est un élément essentiel pour la croissance et le développement de la plante. Il tient un grand rôle dans la multiplication et la division cellulaire. Du point de vue biochimique, il favorise en effet, la synthèse de biomolécules en étant l'un des principaux composants de l'ATP ou Adénosine Triphosphate, qui est une molécule fournisseurs d'énergies pour la plante. Les ATP participent dans les activités photosynthétiques, dans le transfert et le stockage d'énergie au niveau des cellules, dans la synthèse de l'acide ribonucléique (ARN) et de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Ce dernier contient l'information génétique de la plante. Le P contribue également dans l'activation/inactivation des enzymes et au métabolisme des glucides (Razaq et al. 2017), donc influe la photosynthèse, d'où la production de la biomasse. En outre, le P stimule la germination, le développement des racines, de la tige assurant ainsi le rendement. En effet, la concentration de P dans les semences de riz (graines) affecte la vigueur des plantules après la germination, surtout en condition de carence de P dans le sol (Rose et al., 2020). La

faible concentration de P dans les grains pourrait réduire la production de biomasse de 10-20% (Rose et al., 2020). Le réserve de P assure un rapide développement des racines du riz, et induire une meilleure acquisition des nutriments, et une bonne vigueur des plantules. (White et al., 2012). En effet, la vigueur des jeunes plants de riz est surtout conditionnée par la teneur en P des semences. La vigueur est alors un trait souhaitable dans les grandes cultures pour améliorer l'absorption d'eau et d'éléments nutritifs, y compris le P dans le sol et pour assurer la compétitivité contre les mauvaises herbes. Le P est indispensable à la formation de fleurs et de grains. L'adsorption de P est aussi cruciale au niveau du stade reproductive, notamment durant la floraison, dont un retard de la maturité peut s'observer au niveau des sols déficients en P par rapport aux champs fertilisés en P (Rakotoarisoa et al., 2020)

1.2.2 Le phosphore dans le sol

Dans le sol, le P existe sous diverses formes chimiques, notamment P (Pi) inorganique et P organique (Po). Ces formes de P diffèrent dans leur comportement et leur évolution dans les sols (Hansen et al., 2004 ; Turner et al., 2007). Environ 30 à 65 % du P total du sol sont sous forme organique, provenant des résidus organiques (végétaux et animaux) morts et les aussi des microorganismes du sol tandis que les 35 à 70 % restants sont sous forme inorganique (Harrison, 1987). La plante absorbe exclusivement de P sous forme inorganique, par conséquent, le Po peut être transformé par ces microorganismes en Pi, qui sera ensuite disponible pour la plante. La principale source du P est la roche phosphate, dont les gisements ne sont pas renouvelables et s'épuisent lentement (Cordell et al., 2009). Le Pi est classé en trois stocks différents, à savoir (i)les minéraux phosphatés primaires dont l'apatite, la strengite et la variscite, qui sont très stable, et dont la libération de P disponible à partir de ces minéraux par altération est généralement trop lent pour répondre aux besoins de la plante. (ii)Les minéraux phosphates secondaires tels que les phosphates de Calcium, de fer et d'Aluminium, dont le taux de dissolution des minéraux phosphatés secondaires y compris le calcium (Ca), le fer (Fe) et l'aluminium (Al) varient en fonction de la taille des particules minérales et le pH du sol (Pierzynski et al., 2005; Oelkers et Valsami-Jones, 2008). (iii)Les formes adsorbées par les surface argileuses ou/et les oxyhydroxydes de Fe et d'Al, qui seront disponibles par la plante après des mécanismes de dissolution. (iv) Les P disponibles pour les plantes dissous dans la solution du sol, accessibles et assimilables par la plante, sous forme de : $H2PO4^-$ ou $HPO4^{2-}$, présentes dans le sol idéalement à un PH > 7.2. Selon la figure 2, le pic de la forte disponibilité du P est observé entre un pH 6 et 7, toutefois, la valeur exacte du pH pour une solubilité maximale du P dépend d'un sol à un autre. Des études ont avancé que plus de PH du sol est acide, plus de phosphore est indisponible (Lindsay et al., 1979 ; Kirk et al., 2004 ; Batjes, 2012 ; Bekunda et al., 2010; Nishigaki et al., 2019) (Fig.2).

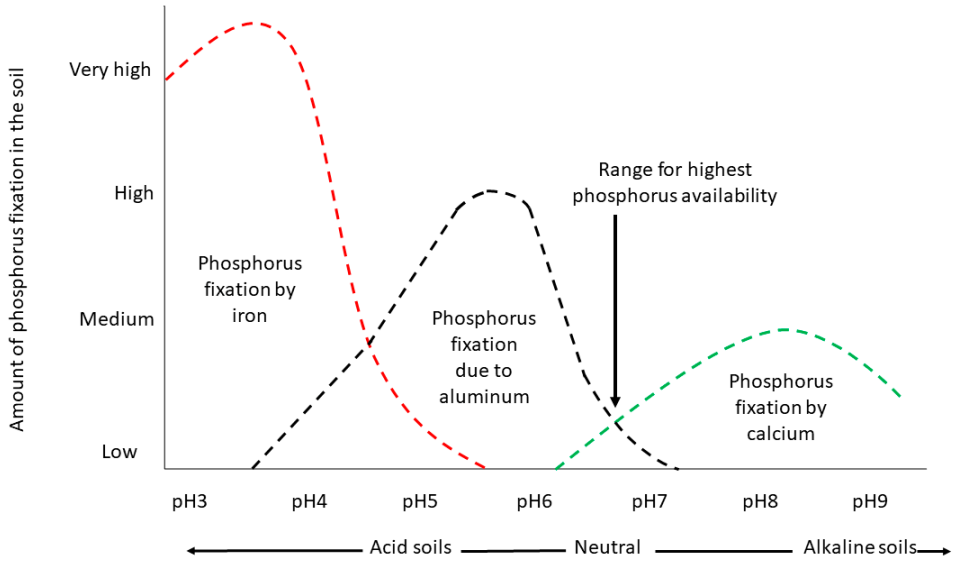


Figure 2: Représentation qualitative générale de la disponibilité du phosphore dans le sol influencé par le pH. Redessiné par (Price, 2006)

Au niveau des ferrasols de Madagascar qui sont des sols riches en oxy/hydroxydes de fer et d'aluminium, le pH est généralement acide (pH<5.5), favorisant la fixation des fractions de P disponibles par ces derniers. Au niveau des rizières, la submersion augmente le pH de la solution du sol acide de 6,5 à 7,2 quand le sol est constamment submergé (Ponnamperuma, 1972). Par conséquent, le problème d'acidité du sol est crucial pour la riziculture pluviale que pour la riziculture irriguée (Rabeharisoa et al., 2012), dont le non disponibilité du P peut entrainer une forte carence en P chez le riz

1.2.3 La carence en P chez le riz

La carence (ou déficit) en éléments nutritifs du riz est détectable selon des symptômes visuels. En effet, e riz présentant des carences en éléments majeurs, tels que N-P-K présente généralement de nombreux symptômes qui parfois similaires. En cas de carence en azote, les vieilles feuilles et parfois toutes les feuilles deviennent vert clair et chlorotiques à l'extrémité. À l'exception des jeunes feuilles, qui sont plus vertes, les feuilles déficientes sont étroites, courtes, dressées et jaunâtres citronnées. En cas de carence en K, les plantes vert foncé avec des bords de feuilles brun jaunâtre ou des taches nécrotiques brun foncé apparaissent d'abord sur les extrémités des feuilles plus âgées.

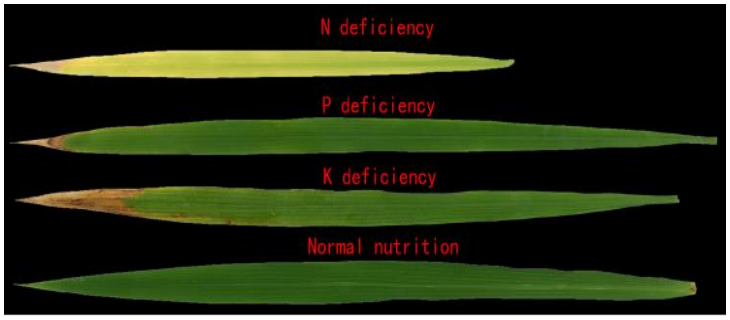


Figure 3: Symptômes de carence en NPK au niveau des feuilles du riz (Chen et al., 2014)
En cas de carence en phosphore, les feuilles sont étroites, courtes, très dressées mais se développent si la variété a tendance à produire des anthocyanes (pigments pourpres).

Sa carence contribuera aux retards de maturité et à l'augmentation de la vulnérabilité du riz aux maladies (Fageria et al., 2003). Au moment du processus de tallage, le riz commence à accumuler de la matière sèche et la carence en phosphore entraine un retard de croissance, érigeant des feuilles vert- foncé es (Marschner 1995). La carence en phosphore peut retarder la maturité du riz d'une semaine ou deux (Fageria, 1980). La perte de la production en biomasse du riz en absence du P peut aller jusqu'à 97% par rapport à une fertilisation adéquate selon, Raminoarison et al en 2021, lors des essais de riz pluvial dans la région de Vakinankaratra. Depuis la germination jusqu'à la maturité, P est indispensable pour le riz, de ce fait, les étapes critiques du riz sont la germination et l'émergence, le tallage, l'initiation paniculaire, la montaison et floraison et la maturation. Ces étapes sont très déterminantes, et la limitation de P pourrait entraver le développement normal du riz..

1.2.4 Les travaux d'amélioration de la disponibilité et l'utilisation du P du sol à Madagascar

De nombreuses recherches ont été effectuées dans le but d'augmenter la disponibilité du phosphore dans le sol. Des études ont avancé que l'apport de matières organiques (MO), est une alternative dans l'amélioration du rendement du riz au niveau des sols déficients en P. En effet, au niveau des ferrasols de Madagascar, les ressources organiques seules améliorent de façon non significative la disponibilité du P dans le sol, toutefois, si elle est couplée avec l'utilisation tu TSP ou Triple superphosphate, elle améliore le rendement (Andriamananjara et al, 2018). L'augmentation du rendement s'explique en effet par les effets positifs des MO sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol, et particulièrement l'amélioration de la phytodisponibilté du P et la réduction de la toxicité aluminique. En 2019, Andriamananjara et al ont démontré qu'une meilleure utilisation de fumier de bovin est corrélée à une absorption plus élevée de P par la plante, suggérant que le P dérivé du fumier est utilisé efficacement et est plus accessible et disponible pour les cultures . A part le fumier de bovin, les MO à forte teneur en P

et à faible rapport C:P tels que le fumier de porcins sont aussi efficaces pour améliorer la disponibilité du P dans des rizières déficients en P (Rinasoa et al.,2022). D'autre part, l'intervention des microorganismes du sol n'est pas négligeable dans le sol ; effectivement, même en absence de fertilisation en P, l'inoculation d'AMF ou Arbuscular mycorrhizal fungi (Champignons) au sein des champs de riz pluvial a amélioré significativement la performance en terme de rendement du riz pluvial, au niveau de sols déficients en P (Rakotoarivelo Njaramanana et al., 2022). Pourtant, il a été établi que la carence en P des sols des HTC de Madagascar varie considérablement d'un champ à l'autre ; Il est donc nécessaire de gérer la fertilisation par champ, pour une meilleure disponibilité et efficience d'absorption et d'utilisation de P par le riz (Nishigaki et al., 2019).

1.3 Le Riz, Oryza Sativa (L.)

Le riz (Oryza sativa L.) est l'un des aliments dont plus de la moitié de la population mondiale en dépend dans son alimentation. Des études ont avancé que le riz a été la première culture domestiquée par l'homme, dans le bassin du fleuve Yangtsé (Chine) il y a 13 000 ans (Lu et al. 2002). Le genre Oryza appartient à la tribu Oryzae, sous-famille Oryzoideae dans la famille Poaceae (Gramineae) (Lu, 1999). Ce genre est divisé en quatre complexes, dont *Oryza sativa, Oryza officialis, Oryza ridelyi et Oryza granulata* (Sweeney et McCouch, 2007). Le complexe Oryza sativa est divisé en six espèces dont deux espèces cultivées et quatre espèces sauvages. Ces dernières comprennent le riz pérenne *O. Rufipogon* et *O.longistaminata*, le riz annuel *O. nivara* et *O. barthii*, le riz australien *O.meridionalis* et le riz sauvage d'Amerique du Sud, *O.glumaepatula*. Par contre, les deux espèces cultivées comprennent l'espèce Oryza sativa L, venant de l'Asie et l'espèce africaine *Oryza glaberrima Steud*. (Wei & Huang, 2019). Premièrement, le riz cultivé Oryza sativa L. est cultivé en Asie et presque partout dans le monde (Sweeney et McCouch, 2007), comprenant cinq groupes ou sous-espèces dont : le sous-espèce indica, japonica tropicale, japonica tempéré, le riz aromatique et le groupe aus . Les sous-espèces regroupent les variétés de riz selon leurs caractéristiques morphologiques, telles que la couleur des feuilles, la taille et le plumage des grains, la hauteur, l'égrenage (Sweeney et McCough, 2007 ; Vijay et Bidhan, 2013) et surtout leurs origines géographiques. Les variétés appartenant aux sous-espèces indica et Japonica sont parmi les plus cultivées dans le monde, surtout en Asie, a l'occurrence, il y a la variété Nipponbarre qui est issue du groupe Japonica, servant de référence mondiale dans le séquençage génomique du riz. La sous-espèce aromatique regroupe les variétés de riz aromatiques telles que le Basmati, tandis que le sous-espèce aus rassemblent les variétés de riz précoces, et qui résistent a de nombreux stress (Londo et al., 2006). De nombreuses variétés issues du groupe aus ont fait l'objet d'études à cause de leurs caractéristiques de

tolérance aux stress. La variété N22, du groupe aus a été décrite comme l'un des cultivars de riz les plus tolérants à la chaleur actuellement connus (Li et al. 2015 ; González-Schain et al., 2016). La variété Dular a montré la plus forte absorption de Phosphore dans des conditions de terrain à faible teneur en P (Wissuwa et Ae 2001) a la plus faible baisse de rendement par rapport à d'autres variétés (Henry et al. 2011). La variété DJ123, appartenant au groupe aus, est connue pour sa haute capacité à tolérer la déficience en P grâce à son volume racinaire élevée (Mori et al., 2016). Par ailleurs, l'espèce Oryza glaberrima, a été domestiquée dans l'Afrique de l'Ouest, il y a 3500 ans. Cette espèce regroupe des variétés à haut potentiel, étant un riche réservoir génétique, due à leur haute tolérance aux stress abiotiques et biotiques, dont la sècheresse, la pauvreté du sol et les plantes adventices (Jones et al. 1997b ; WARDA 1997; Sarla et Swamy 2005; Futakuchi et Sié 2009; Wambugu et al. 2013). Le croisement interspécifique entre O.Sativa et O.glaberrima a donné les variétés NERICA ou NEw RICe for Africa. Plus précisément, c'est le croisement entre les variétés WAB 56-104, WAB 50-56, WAB 181-18 (O. Sativa Japonica) et la variété CG14 (O. glaberrima). Les variétés NERICA, numérotées de 1 à 11 étaient issues du WAB 56-104 et CG14, Y compris la variété Nerica4 (N4), qui est devenue populaire en Afrique Sub-Saharienne (WARDA, 2007)

1.4 Adaptation du riz face à la déficience en P dans le sol

Les plantes, y compris le riz ne peuvent échapper aux contraintes environnementales et, par conséquent, pour être tolérantes, elles ont développé de nombreuses réponses adaptatives pour faire face aux stress environnementaux, tels que la déficience en P du sol. De ce fait, les variétés de riz en question réagissent par rapport à la déficience en P dans le sol du fait qu'elles développent des adaptations morphologiques, physiologiques, biochimiques et moléculaires (Raghothama et al.,2005). Les plantes qui peuvent s'adapter dans des conditions de limitations de P dans le sol et donner de bons rendements sont dites plantes efficientes. L'efficience en P de la plante donc dépend des deux mécanismes, qui sont le PAE : Efficience d'Acquisition du Phosphore, c'est-à-dire, mesure de la quantité de P totale acquis par plante, ou l'absorption de P par unité de surface racinaire (Fig.4, Wang et al.,2010, Wissuwa et al., 2020) et le PUE : Efficience d'Utilisation du Phosphore, c'est-à-dire, la quantité de biomasse produite par unité de P acquis.

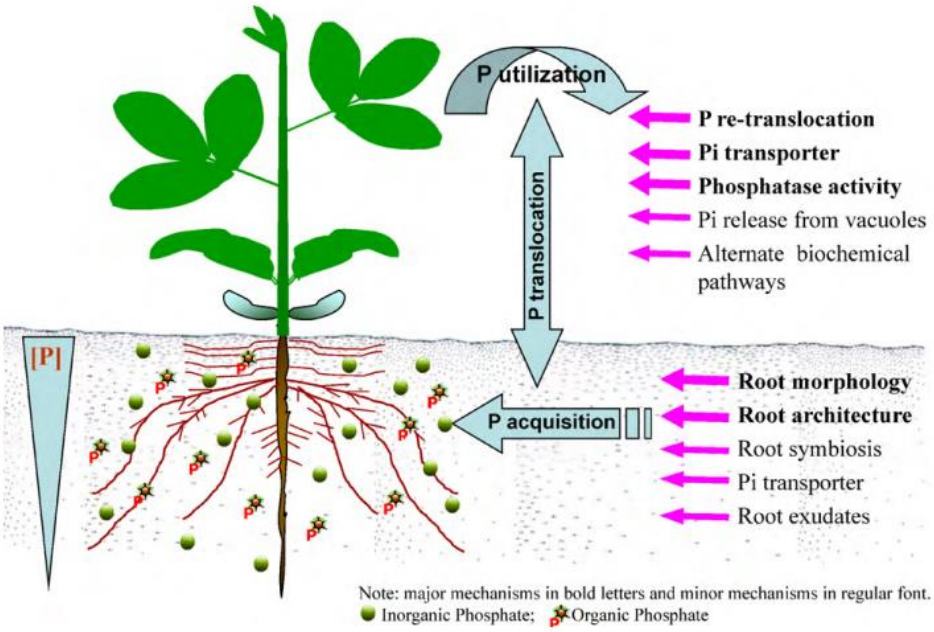


Figure 4: Représentation schématique des mécanismes possibles d'acquisition et d'utilisation du phosphore pour une meilleure croissance des cultures modernes cultivées dans des systèmes de culture intensive (Wang et al., 2010)

1.3.1 Le PAE

Le PAE est lié à l'absorption de P dans le sol et variable selon les variétés par des différences dans la taille des racines, c'est-à-dire les traits racinaires, dont l'architecture racinaire et les exsudats racinaires qui améliorent la biodisponibilité du P.

a) Les symbioses mycorhiziennes et les exsudats racinaires

Il existe des preuves que l'AMF peut être bénéfique pour le rendement et la nutrition du riz, et en particulier pour l'absorption de P pour le rendement et la nutrition du riz, et en particulier pour l'absorption de phosphore (Maiti et al., 2011). Parmi les microorganismes qui vivent dans le sol, *Pseudomonas, Bacillus, Penicillium* et *Streptomyces* ont été enregistrés comme bactéries qui solubilisent le P (Bargaz et al. 2018). De plus, les résultats de recherches ont avancé que les racines de riz secrètent des exsudats qui seront capables de solubiliser le P inorganique indisponible dans le sol, (Matsushima et aL, 2021). Kirk et al., 1999 et Hoffland et al., 2006 ont fourni des preuves sur l'implication de l'exsudation d'acides organiques du riz racines dans l'absorption de P car Lorsque les plantes font face à une carence en P, elles libèrent des métabolites tels que les acides organiques ou les phosphatases acides de leurs racines dans le sol (Dakora et al. 2002; Tadano and Sakai, 1991).

b) L'Architecture racinaire

Le système racinaire a récemment été considéré comme un trait important pour l'amélioration de la production végétale en raison de son rôle central pendant la croissance de la plante, à l'occurrence l'acquisition de l'eau et les nutriments, l'ancrage du sol, la réponse aux stress biotiques et abiotiques, et interaction avec des organismes symbiotiques (Gewin, 2010 ; Herder et al., 2010). Le développement rapide des racines des plantules (à un stade précoce) est un trait clé pour assurer que l'absorption rapide de phosphore atteigne des taux suffisamment élevés pour soutenir la croissance après l'épuisement des réserves de P des semences (dans les grains) (Pariasca-Tanaka et al., 2015). Li et al., en 2009 ont confirmé que les lignées extrêmement tolérantes (à la déficience en P) avaient une biomasse racinaire significativement importantes que les lignées extrêmement sensibles. En effet, plus le volume racinaire augmente, plus cette croissance racinaire facilitera l'absorption du P dans le sol. Pour l'acquisition du phosphore dans le sol, il a été démontré qu'il existe une variation significative entre les génotypes pour l'architecture racinaire (Lynch, 1995). Le riz a une racine post-embryonnaire fibreuse développée. L'architecture du système racinaire du riz est typique des monocotylédones dans lesquelles la racine primaire, souvent appelée racine séminale, est connue pour être éphémère et de courte durée. Deux à trois jours après la germination, plusieurs racines couronnes ou CR émergent du nœud coléoptilaire en brisant la gaine (Fig.5). Les racines latérales, qui proviennent de la racine primaire, et les CR, forment le système racinaire fibreux. Le nombre de CR varie d'une variété à une et augmente avec le temps (Rebouillat et al., 2009). Les plants de riz ont deux types de racines latérales (LR) : de type S, qui sont courtes et minces ; et de type L qui sont longues, épaisses et capables de ramifier davantage (Kano et al., 2011 ; Toyofuku et al., 2015 ; Menge et al., 2016).

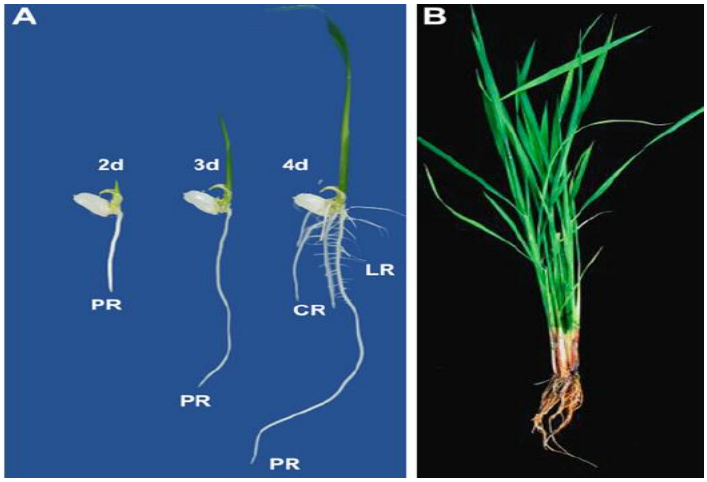


Figure 5: Système racinaire du riz. (a) Morphologie du plant de riz, 2–4 jours après la germination. (b) Morphologie d'un plant de riz de 60 jours, montrant le système racinaire fibreux . De nombreuses racines

de couronne se développent à partir des nœuds de la tige. Les racines latérales se développent à partir des racines primaires et de la couronne. Les petites et les grandes racines latérales sont présentes (non représentées). PR racine primaire, racine couronne CR, racine latérale LR.

c) Les traits racinaires lies à l'acquisition du P dans le sol par le riz

Des traits racinaires, responsable et liés à l'adsorption du phosphore dans le sol sont décrits dans le tableau 1. En effet, quatre facteurs peuvent influer sur l'absorption de phosphore par les plantes et doivent être pris en compte : (1) la longueur, le diamètre, l'architecture et la couverture des poils, car ils influent sur la surface disponible pour l'absorption du phosphore; (2) l'absorption de P par unité de surface des racines et des poils; (3) les changements induits par les racines dans le sol qui affectent la solubilité du phosphore; et (4) les effets des microbes de la rhizosphère et des champignons mycorhiziens. Confirmant ce qui a été dit dans le précédant paragraphe, le système racinaire du riz pluvial comprend un grand nombre de racines qui sont classées en racines latérales de type couronne, séminale, L et S. Les types S sont des racines latérales courtes et fines ((<1 cm de longueur ; <80 µm de diamètre) uniques au riz (Yamauchi et al., 1987) et généralement le double de la longueur totale d'un système racinaire (Wissuwa et al., 2020). Les CR et les racines latérales, y compris les fines racines en S, produisent des poils. Une modélisation 3D récente, tenant compte du transport du sol, des limites d'absorption, des racines latérales de type S et des poils, montre que le coût du phosphore de ces fines latérales est récupéré dans la journée suivant leur formation (Gonzalez et al., 2021). Donc, la formation des racines fines est moins couteuse que celle des racines couronne (ou CR). Aussi, Ils sont donc efficaces dans l'utilisation du P. Un résumé sur les traits racinaires et leurs rôles dans l'acquisition de l'eau et du phosphore du sol est décrit dans le tableau 1.

Tableau 1: Relation entre les traits racinaires et leurs rôles dans l'acquisition du P dans la solution du sol

Traits racinaires	Sous-traits	Description	Références
Profondeur d'enracinement	Longueur de la racine primaire	La croissance de la racine primaire est inhibée en cas de déficience en P	López-Bucio et al., 2013
	Diamètre de l'extrémité racinaire	Les extrémités racinaires de grand diamètre ont amélioré la pénétration racinaire des sols durs et secs	Haling et al., 2013
Poils racinaires		La prolifération des poils racinaires est stimulée dans des conditions de déficience en P, les poils racinaires peuvent contribuent à 70 % ou plus de la	Haling et al.,2013; Miguel et al., 2015; Bates et al., 2001

		surface racinaire totale et peuvent être responsables de jusqu'à à 90 % du P acquis.	
		Les poils racinaires protègent l'état hydrique des jeunes tissus racinaires.	Tanaka et al., 2014
		Les poils racinaires améliorent la pénétration racinaire du sol dur et desséchant.	Haling et al., 2013
Ramification des racines	Nombre et longueur des racines latérales (LR)	L'initiation et l'émergence de LR sont stimulées pendant la limitation du P	Den Herder et al.,2010; Postma et al., 2014
		Les racines latérales sont considérées comme la partie la plus active du système racinaire pour l'eau et représentent la majorité de la longueur et de la surface des systèmes racinaires dans différents types de plantes.	Rewald et al., 2011
	Peu profond/ Racines adventives	Une trajectoire gravitropique réduite des racines basales, un enracinement adventif et altère la dispersion des racines latérales permet la recherche de nourriture sur la couche arable en réponse à une faible disponibilité de P.	Den Herder et al., 2010; York et al., 2015; Niu et al., 2013; Zhu et al., 2005; Lynch et al., 2001
Nombre de racines		La réduction du nombre de racines du collet est associée à une plus grande profondeur d'enracinement, à la capture de l'azote et rendement dans un sol à faible teneur en azote.	Saengwilai et al., 2014; Lynch et al., 2014

1.3.2 Le PUE

La tolérance a la déficience en P ne se résume pas seulement au PAE, mais il y a aussi le PUE, dont la stratégie de la plante consiste à optimiser l'utilisation de P (acquis) en produisant plus de biomasse. Le PUE mesure l'efficacité avec laquelle le P absorbé est utilisé pour accumuler soit le rendement en grains, soit la biomasse végétative, à travers les processus biochimiques et l'intervention des transporteurs spécifiques (Fig.4). Toutefois, des travaux de caractérisation de PUE sur le riz ont été moindre jusqu'à présent (Mori et al., 2016). Mais des différences significatives entre les génotypes ont été observées en

termes de PUE (Wissuwa et al., 2015 ; Irfan et al., 2020). Les génotypes à PUE élevé maintiennent des concentrations de P plus faibles dans les feuilles développées dans des conditions déficientes en P (Adem et al., 2020). En effet, cet auteur, ont pu démontrer que la variété populaire IR64 (Populaire en Asie) a un faible PUE, mais que les variétés venant du Bangladesh DJ123 et Taichung ont eu un PUE élevé La principale différence au niveau de ces variétés était une forte concentration de P au niveau des jeunes feuilles, qui s'avèrent être un stock de P à remobiliser en cas de limitation de P dans le sol (ou même de P acquis). Les jeunes feuilles (Adem *et al*., 2020 ; Irfan *et al*., 2020) et les racines étaient les principaux puits tandis que les tiges et les feuilles matures étaient les sources de P pendant l'omission de phosphore. En conclusion, l'allocation de biomasse et l'accumulation de P entre divers tissus et la remobilisation du P ont été des facteurs majeurs responsables de l'efficacité de P, et la variété populaire Basmati fait partie des cultivars qui ont ces propriétés (Irfan *et al*., 2020).

1.5 Le déterminisme génétique du riz face à la tolérance a la déficience en phosphore

Il a été démontré que des variétés tolérantes existent grâce aux mécanismes d'adaptation, mais aussi ces adaptations sont liées à la génétique. Dans les années 1980, le riz est devenu une plante modèle pour la recherche génétique parce qu'il a le plus petit génome des céréales à 389 Mb, vaste collection de matériel génétique, énorme répertoire de des ressources génétiques moléculaires et un système de transformation efficace (IRGSP, 2005). Des réalisations significatives ont été réalisées en termes d'amélioration de l'efficacité de l'acquisition de P dans les cultures, où un gène lié à l'absorption du phosphate (PUP1 QTL/Pstol1) a été identifié (Wissuwa et al., 2015) et un effort de sélection est en cours pour l'introgression de ce gène dans les lignées de sélection, ce qui est la première étape des programmes visant à améliorer l'efficacité du P (Gamuyao et al., 2012).

1.4.1 Le gène *Pup1*

L'absorption de P (Pup1) est un locus à caractères quantitatifs majeurs (QTL) situé sur le chromosome 12 du riz (Oryza sativa) qui est associé à la tolérance à la carence en P dans le sol (Wissuwa et al., 1998). Les loci[2] de caractères quantitatifs (QTL) sont des régions génétiques qui influencent la variation phénotypique d'un trait complexe, souvent par le biais d'interactions génétiques entre eux et avec l'environnement. Ceux-ci sont généralement identifiés par une analyse génétique statistique connue sous le nom de cartographie QTL. L'analyse quantitative des locus de caractères (QTL) est une méthode statistique qui relie deux types d'information – les données phénotypiques (mesures de caractères) et les

[2] Location specifique d'un gene

données génotypiques (généralement des marqueurs moléculaires) – dans le but d'expliquer la base génétique de la variation des caractères complexes (Falconer et Mackay, 1996; Kearsey, 1998; Lynch et Walsh, 1998). L'analyse QTL permet aux chercheurs dans des domaines aussi divers que l'agriculture, l'évolution et la médecine de relier certains phénotypes complexes à des régions spécifiques des chromosomes.

Kasalath, la variété donneuse Pup1, était initialement identifiée lors d'un criblage de 30 génotypes de riz au niveau d'un sol déficient en P au Japon dans des conditions pluviales. Par la suite, les données phénotypiques ont démontré que les lignées avec et sans le QTL ont montré que Pup1 augmente l'absorption de P (Wissuwa et Ae, 2001 ; Wissuwa et al., 2002) et confère un avantage de rendement important (poids de grain de 2 à 4 fois plus élevé par plante) dans des expériences en pot utilisant différents types de sols et environnements déficients en P (Chin et al., 2010). Le séquençage de Pup1 QTL montre le gène de la protéine kinase spécifique de Pup1. L'identification du gène PSTOL1 (PSTOL1) de la protéine PSI kinase codant pour la tolérance de privation de phosphore dans le riz en améliorant l'allongement précoce des racines, augmentant ainsi le rendement en grains dans les sols déficients en phosphore (Gamuyao et al. 2012). Récemment, un nouvel allèle PSTOL1 a été signalé à partir de variétés de riz des hautes terres du NERICA (Pariasca-Tanaka et al. 2014) héritées du parent *O. glaberrima* CG14.

1.4.2 Les QTL liés à la déficience en phosphore

L'identification et la sélection de cultivars appropriés et de caractères responsables de la tolérance sont les principales cibles pour les phytogénéticiens et les physiologistes. Les QTL identifiés par les auteurs, dans le tableau 2 sont des opportunités d'amélioration des variétés de riz, pour mieux s'adapter à l'appauvrissement du sol en phosphore.

Tableau 2: Liste des QTL liés à la tolérance a la déficience en P, identifiés liés par les autres auteurs

QTL	Chromosome	Parents	Traits	Auteurs
Pup1	12	Kasalath x Nipponbarre	-Biomasse -Nombre de talles	Wissuwa et al., 1998
qRTW-6 *qRW-6* *qSW-6*	6	ZYQ8 (Indica) x JX17 (Japonica)	Biomasse (Aérienne, racinaire et totale)	Ming et al.,2000

THK *MRL* *DRW*	1,4 ,9,11,12	IAC165 × Co39	Longueur, épaisseur et biomasse des racines	Courtois et al., 2003
qREP-6	6	Gimbozu × Kasalath	Elongation racinaire	Shimizu et al. 2004
RDSW	1,2 ,5,12	OM2395 x *Oryza rufipogon*	Biomasse aérienne	Nguyen et al., 2004
11 QTL épistatiques		Yuefa x IRAT109	Vigueur des plantules	Li et al., 2009
qDSW1 *qr1* *qseedP1* *qRV7*	1, 2,7,8	Wazuhophek x Samba Mahsuri	Nombre de talles, Longueur de panicule, volume racinaire, biomasse,	Kale et al.,2021

1.6 Les travaux de sélection de riz pluvial à Madagascar

Les variétés qui ont été citées dans les précédentes paragraphes étaient tous des variétés servant des donneurs, dotant la tolérance face a la déficience en P. Malheureusement, la majorité de ces recherches ne se passaient dans l'ASS (Afrique Sub-saharienne), là où les sols sont acides.

A Madagascar, les parcelles destinées à la culture du riz pluvial sont très petites, allant de 0.02ha en moyenne. Il est à noter que 87% des parcelles reçoivent de la matière organique lors du semis, et 8% ne reçoivent aucun traitement de fertilisation. Les travaux de sélection de riz pluvial à Madagascar se sont concentrés uniquement au niveau des HTC de Madagascar, vue que c'est la région qui est la plus peuplée de Madagascar, d'où l'importance d'y concentrer la sélection variétale, notamment la sélection des variétés de riz pluviale (Raboin et al., 2013). Dans les années 1990, premières variétés aptes à la culture en haute altitude (de 1250 à 1800 m.) ont été homologuées par le FOFIFA (Centre national de la recherche appliquée et du développement rural) et le CIRAD (Dzido et al., 2004). Les variétés les plus réussies étaient toutes obtenues par la sélection *pedigree*[3] (sélection par descendance) performée a 1500m d'altitude, d'où, des variétés tolérantes au froid (Raboin et al., 2011). Par la suite, ces variétés, qui étaient tolérante au froid ont été très sensibles à la pyriculariose, d'où la nécessité de création et sélection de variétés de riz pluvial à la fois tolérantes au froid et pyriculariose (Raboin et al., 2013). Les variétés issues des sélection variétales sont détaillées dans le l'Annexe 1. De plus, le plus grand succès de l'amélioration variétale à

[3] En d'autres termes, il s'agit d'une procédure de sélection dans la ségrégation de la population d'espèces autogames qui tient un registre approprié des plantes et/ou des descendants sélectionnés à chaque génération.

Madagascar était l'homologation de la variété CD, d'origine népalaise, dotant d'une très bonne tolérance au froid et à la pyriculariose et aussi une bonne adaptation aux sols pauvres et dont le taux d'adoption par les riziculteurs est de 83% (Raboin et al., 2014). A part cette découverte, le développement des variétés de riz pluvial NERICA (ou New rice for Africa) à partir de croisements interspécifiques entre l'amélioration des variétés tropicales *japonica* et O. *glaberrima* a été considérée comme une percée majeure dans la sélection du riz en Afrique, et même à Madagascar (Saito et al. 2014). Dix-huit variétés NERICA ont été homologuées dans tout l'Afrique Sub-saharienne (Cf. Annexe 2), dont les variétés Nerica10 et Nerica4 deviennent de plus en plus populaires au niveau des Hautes Terres malgaches. Toutefois, des études ont montré les variétés de riz pluvial NERICA des hautes terres se sont avérées manquer de potentiel que la capacité de rendement élevée, la capacité de compétitivité avec les mauvaises herbes et l'adaptation à une faible fertilité des sols, partageant plutôt des similitudes dans ces caractéristiques avec leur parent récurrent O. sativa 'WAB56-104' mais restant inférieurs à leur parent donneur O. *glaberrima* 'CG 14' en termes de capacité de tallage et capacité de suppression des mauvaises herbes (Saito et al., 2014). Malgré les problèmes de fertilité des sols à Madagascar, des travaux de sélection variétale, visant l'adaptation des nouvelles variétés au niveau des sols pauvres, notamment la déficience en P n'ont pas encore eu lieu.

1.7 Objectifs et hypothèses

L'objectif général de cette étude est d'identifier les facteurs responsables de la productivité des variétés de riz pluvial au niveau des sols déficients en P à Madagascar ; plus précisément, de déterminer les facteurs clés sur l'adaptation des variétés tolérantes.

Les objectifs spécifiques sont :

- OS1 : Sélectionner et évaluer les lignées de riz pluvial tolérantes à la déficience en P
- OS3 : Effectuer une étude physiologique des phénotypes qui caractérisent la tolérance de la déficience en P, des variétés sélectionnées.
- OS2 : Déterminer la variation au sein d'une population issue des variétés tolérantes, pour identifier les traits de tolérance potentiels et faire la cartographie QTL.

Hypothèses de recherche :

Tout d'abord, Au niveau des sols déficients en phosphore, les variétés de riz pluvial issues de la sous-espèce *aus* incluant DJ123 ont été performantes en termes de biomasse et de rendement en grains (Mori et al. 2016, Vandamme et al., 2016). Cette performance est due à son (DJ123) efficience racinaire élevée, c'est-à-dire, sa capacite à acquérir suffisamment P dans le sol, grâce à ses racines développées, pour

assurer la production de biomasse, même en cas de déficit en P dans le sol (Mori et al.2016, Wissuwa et al. 2020). Par la suite, de nombreuses études (Mori et al.,2016, Vandamme et al., 2016., Wissuwa et al., 2020) ont confirmés que DJ123 a montré une vigueur racinaire élevée, produisant un système racinaire beaucoup plus grand que d'autres variétés, telle que la variété non tolérante, N4. Cette dernière, est moins performante au niveau de ces sols déficients en P (Saito et al., 2015b ; Atakora et al., 2015; Vandamme et al., 2016), ayant efficience racinaire significativement faible que celui de DJ123 (Wissuwa, et al. 2020). Cette caractéristique favorise sa capacité à chercher du P dans le sol, à l'acquérir pour ensuite l'utiliser pour la croissance et le développement. Enfin, Mori et al., a pu démontrer que la tolérance de DJ123 face à la déficience en P est liée à des allèles[4]

Suite a ces informations, trois hypothèses ont été avancées :

- **H1 : Croisée avec Nerica4, la variété DJ123 pourrait donner des descendants ayant des traits de tolérance face à la déficience en P, meilleures que ceux des parents en termes de tolérance dans un sol déficient en phosphore.**
- **H2 : Des traits racinaire spécifiques sont responsables de la tolérance des variétés sélectionnées à la déficience en P. Ces traits confèrent aux variétés une meilleure acquisition du phosphore du sol, puis une meilleure croissance et production de biomasse racinaire et aérienne.**
- **H3 La tolérance des descendants de la variété DJ123 croisés avec N4, face la déficience en P est expliqué par des QTLs identifiés dont l'allèle positif vient de DJ.**

1.8 Méthodologie et plan de la thèse

Dans le but d'atteindre ces objectifs, et de confirmer ces hypothèses, des expérimentations au champ et en pot ont été réalisés à Madagascar et au Japon. Une partie de l'objectif général étant de sélectionner des variétés tolérantes en sol déficient en P pour Madagascar, la majorité des expérimentations au champ était au niveau de sols rouges de Madagascar. Puis, Japon était un deuxième site, aussi déficient en P pour la confirmation des résultats obtenu à Madagascar. Toutefois, les essais en pots étaient faits au Japon, au niveau de la station de JIRCAS. Depuis la saison culturale 2016-2017, les lignées NDJ ont été évaluées, grâce aux critères de sélection adoptées. Le processus de sélection ainsi que le résultat des évaluations seront détaillés dans le chapitre 1, répondant à l'objectif spécifique S1. Sur 3 saisons de suite, 2 lignées élites ont été identifiées pour des études génétiques et physiologiques. La caractérisation physiologique

[4] Une version variable, d'un gène

des variétés sélectionnées se porte surtout sur la capacité des variétés à acquérir le phosphore dans le sol, et à l'utiliser efficacement pour leur croissance et développement. Ces études seront développées dans le chapitre 2, répondant à l'objectif spécifique OS3. Un rétrocroisement[5] avec le parent Nerica4 a été fait, à Madagascar dans le but de faire une analyse QTL. Cette analyse permet d'identifier puis de localiser la position des *loci*[6] responsables des caractères liés à la tolérance des variétés sélectionnées au sol pauvre. Toutefois, les expérimentations ont été faites au Japon, mais c'est la confirmation des QTL qui a été effectuée à Madagascar. Le Chapitre 3 décrit l'analyse QTL ainsi que les QTL identifiés au niveau des populations issues du rétrocroisement, répondant spécifiquement à l'OS3.

[5] Un rétrocroisement, aussi appelé "croisement en retour", est le croisement d'un hybride avec l'un de ses parents ou avec un individu similaire sur le plan génétique à l'un de ses parents 1, de manière à obtenir un descendant ayant une identité génétique plus proche de celle du parent

[6] Un locus, loci en pluriel, est l'endroit exact sur le chromosome, ou se localise un gène ou marqueur, dont la variante est une allèle.

Chapitre 2 : Sélection des lignées de riz pluvial tolérantes à la déficience en P à Madagascar

2.1 Introduction

Le Riz, *Oryza sativa* est l'aliment de base pour plus de la moitié de la population mondiale. Il est la source de plus de 20% de l'apport calorique total. Pour le cas de Madagascar, la consommation de riz par habitant est la plus élevée en Afrique et qui est estimée à 154 kg par habitant par an (équivalent paddy) en 2009 (FAO-STAT, 2014). Autrefois, Madagascar exportait du riz, mais depuis des décennies, elle est devenue un pays importateur de riz, suite à de nombreuses causes (accroissement de la population, les fléaux climatiques, et aussi la saturation des bas-fonds). Un des facteurs limitants est la déficience en P disponible dans le sol. De plus P est une ressource non renouvelable car le stock de P sans le sol est épuisable, dont le seul stock provient de la roche phosphate (Cordell et al., 2009). Avec une consommation continuellement non soutenue, on prévoit que les engrais phosphatés deviendront bientôt limités et plus chers (Cordell et al., 2009). Sans autres sources telles que les fertilisants (organiques, minéraux) qui s'avèrent couteux, la baisse de rendement est à craindre, surtout au niveau des pays en voie de développement. Au niveau de l'ASS, les systèmes de riziculture pluviales et irriguées sont tous sujets à des conditions de déficience en nutriments du sol (Haefele et al., 2013 ; Saito et al., 2013), notamment le P. Madagascar, qui est un pays tropical, est victime des problèmes de nutrition de sol, majoritairement, l'appauvrissement en P disponible du sol, à cause de sa fixation par les oxydes/hydroxydes d'Aluminium (Nishigaki et al., 2019). En effet, les sols acides sont caractérisés par une forte fixation de P dans le sol, le rendant non disponible pour les plantes (Rabeharisoa, 2012). Par conséquent, le faible rendement du riz pluvial, qui est en moyenne 1t.ha^{-1} (Ministère Agriculture, 2017) est en partie causé par le type de sol. Dans les années 1990, FOFIFA avec le CIRAD ont promu les premières variétés de riz pluviale dans les HTC de Madagascar (Raboin et al., 2013). Cette région est caractérisée par une haute altitude allant jusqu'à 1800m et une température allant de 10 degre Celsius (℃) à 30℃ durant la saison de culture pluviale. Les variétés homologuées étaient issues du *CD*, une variété tolérante au froid venant du Népal. Le taux d'adoption de cette variété au niveau des HTC était de 88.4% en 2012 (Raboin et al.,2014). Depuis la promotion des variétés de riz pluviale, cette dernière gagnait de plus en plus de popularité, même en dehors des HTC vu qu'elle tolérait aussi la pyriculariose, qui est une maladie fongique du riz et s'adaptait aux zones de basse altitude (en dessus de 1500m). Des nouvelles variétés (Cf. Annexe 1) ont été homologuées, à travers ces travaux de sélection et sont désormais accessibles pour les riziculteurs Malagasy. Récemment, les variétés NERICA (ou New Rice for Africa), qui sont, tolérantes au striga[7] et à la sècheresse (ADRAO, 2008) ont été introduites et homologuées à Madagascar. Les variétés de riz pluvial

[7] Plante adventice parasite de l'Afrique de l'Ouest

Nerica gagnaient alors de popularité au niveau des zones de hautes terres de Madagascar, ainsi que dans la partie du Moyen-Ouest de Madagascar, dont 17 variétés ont été récemment homologuées en 2019 (Ozaki et al.,2020). Toutefois, d'après Saito et al., 2014 ; Wissuwa et al., 2020, les variétés Nerica n'étaient pas tolérantes au sol pauvre, notamment la déficience en P. Il est alors bien indispensable de concentrer les efforts de sélection dans ce domaine, créant ainsi des variétés tolérantes et qui s'adaptent facilement dans ces conditions de carence en P des sols. D'où l'intérêt de cette étude de sélections de variétés de riz pluvial en condition de déficience en P. Dans le but d'atteindre l'objectif de sélection des variétés tolérantes, la caractérisation des parents DJ123 et N4 sera élaborée en premier lieu, puis l'évaluation phénotypique des descendants sur 2 saisons de suite s'entamera, et enfin l'évaluation de rendement des variétés élites sera détaillée en dernier lieu.

2.2 Matériel et Méthodes

Le croisement entre DJ123 et Nerica4 effectué par *AfricaRice*, a donné les lignées **NDJ**. En effet, la variété DJ123 appartient au sous-espèce *aus*. C'est une variété tolérante a la déficience en P (Mori et al., 2016 ; Wissuwa et al., 2020), tandis que la variété Nerica4, selon les rapports de (Saito et al., 2014 et Wissuwa et al., 2020) n'est pas tolérante aux stress causés par la déficience en P dans le sol. Cette variété, est issue du croisement interspécifique entre l'espèce *Oryza Sativa* et le riz sauvage africain, *Oryza Glaberrima.*

2.2.1 Expérimentations

Dans le but de caractériser les parents ainsi que les lignées NDJ, trois essais expérimentaux, notées 1, 2 et 3 ont été réalisés.

- **<u>Expérimentation 1 : caractérisation des parents</u>**

DJ123 et N4 ont été caractérisées grâce à des expérimentations en solution hydroponiques, expérimentations en « rhizoboxe » ainsi que des expérimentations au champ, à Tsukuba, Japon (36°05'N, 140°08'E ; altitude 50 m au-dessus de la mer). Pour la solution nutritive, la solution Yoshida a été utilisée (Yoshida, 1972), dans laquelle, la concentration standard de P qui était de 320mM (ou millimole) de P a été réduite en 2mM dans le but d'évaluer la performance des parents en milieu très pauvre en P. Pour l'expérimentation « rhizoboxe », un sol très pauvre en P, dont la teneur en P disponible est de 5 mg P kg−1 de sol, Bray-II a été utilisé. Les dimensions du plexi glace étaient de 30cm x 30cm x 3 cm (Hauteur, largeur et profondeur). Le type de sol pour l'expérimentation au champ a été le même que celui qui a été utilisé pour l'expérimentation « rhizoboxe ». Les échantillonnages ont été fait 35 jours après le semis, puis le

nombre de racines ont été compté, ensuite, le poids sec de la biomasse racinaire, ainsi qu'aérienne a été déterminé après le séchage des échantillons dans l'étuve, à 65℃ pendant trois jours.

- **Expérimentation 2 : évaluation des lignées NDJ**

  - ***Saison culturale 2015-2018***

Plus de 200 lignées NDJ, provenant de la génération F3, ont été importées via *AfricaRice*. Elles ont été évaluées en premier lieu à Ankazomiriotra, Madagascar (19º 39'S 46º 30'E ; altitude 1016m au-dessus de la mer), puis à Morondava, durant la saison culturale 2015-2017, dans le but de sélectionner les lignées pour la prochaine saison. La méthodologie de sélection a été effectuée en comparant la performance des descendants avec les parents et les variétés locales. Apres l'évaluation, 64 lignées (Génération F4) ont été sélectionnées pour la prochaine saison. Suivant les générations, une à deux plantes par lignées, (dont sa notation suit la numérotation et la génération) ont été sélectionnées dont les critères étaient basés sur l'homogénéité et la performance agronomique. Malheureusement les résultats issus de la sélection durant la première saison ne sont pas disponibles. Toutefois, 87 lignées ont été sélectionnées pour la prochaine évaluation. Avec la génération F6, l'expérimentation était mise en place sur deux sites (*Ankazomiriotra et Belanitra*) avec deux répétitions chacun, durant la saison culturale 2017-2018. Un grain par poquet, a été semé avec espacement de 10cm par poquet, et 20cm d'espacement entre les lignes. Le semis a été effectuée vers le début de la saison des pluies, le 27 Novembre 2017. Malheureusement, le site de *Belanitra* a été victime d'un tassement du sol, d'où la germination était non-homogène. De ce fait, seul, le site *Ankazomiriotra* a été retenu pour l'évaluation. A part l'homogénéité (hauteur homogène), les critères d'évaluation ont été basées sur le poids sec des pailles (SW), le poids des panicules par plante (PDW), le cycle à la floraison (CAF) et le nombre de panicules par plante. Il est à noter que les lignées NDJ ont été évaluées en comparaison avec la variété CD et les deux parents N4 et DJ123. A la suite de cette évaluation, trente-trois variétés ont été sélectionnées pour la prochaine expérimentation (F8), après une accélération de génération à *Marovoay*. Le résumé de ces étapes de sélections est décrit dans la figure 16.

Les sigles de la sélection Pedigree était somme suit :

Génération F3 = NDJ100 » Génération F4 = NDJ100-1 ou NDJ100-2 (pour deux plantes sélectionnées) » Génération F5 = NDJ100-1-1 » Génération F6 = NDJ100-1-1-1

- ***Saison culturale 2018-2020***

L'évaluation de la génération F8 (2019-2020) a été effectuée sur deux sites expérimentales à *Ankazomiriotra 1* (pH= 5.1, P disponible (Olsen)= 6mg.kg^{-1}) et *Ankazomirotra 2* (pH=5.2, P disponible (Olsen)= 6.3mg.kg^{-1}). Le dispositif expérimental, a été élaboré suivant une randomisation complète par bloc, ou les blocs représentaient les répétitions. Un grain par poquet a été semé avec un espacement de 20Cm x 20Cm, dont les variétés témoins étaient N4 et F182 (Variété récemment homologuée par FOFIFA et CIRAD, tolérante a la pyriculariose et au froid). Les critères d'évaluation étaient basés sur des mesures qualitatives (tolérance à la verse, aux maladies, *striga*) et quantitatives (Nombre de talles par plantes avec huit échantillons de plantes par lignée par répétition, Poids de panicule par plante, Cycle et Biomasse aérienne).

- **Expérimentation 3 : évaluation du rendement**

Les essais sur le rendement ont été mis en place sur deux saisons, dont 2020-2021 et 2021-2022. Trois variétés en comparaison avec N4, ont été choisies sélectionnées. Durant la saison culturale 2020-2021, cinq sites expérimentaux, notés site1, site2, site3, site4, et site5, toujours dans la commune rurale d'Ankazomiriotra, ont été optés, avec trois répétitions pour chaque site. Quatre grains par poquets ont été semés dont l'espacement entre les poquets est de 20 Cm X 20 Cm. Le niveau de fertilité et les précédents culturaux ont été différents pour les 5 sites. Le niveau de fertilité est déterminé selon le résultat d'analyse de sol (P OLSEN). Mais éventuellement, des observations ont été faites durant les différents stades de croissance et de développement du riz. Les détails des 5 sites sont cités dans le tableau suivant :

Tableau 3: Caractéristiques des sites expérimentaux, pour l'essai de rendement 2020-2021 (NA : Analyse de sol non- effectué, AZ est le diminutif de Ankazomiriotra, AT est le diminutif d'Antohobe)

Site	**Dénominations**	**PH du sol**	**P dans le sol (mg.kg^{-1})**	**Date de semis**	**Précédent culturale**
Site1	Ankazomiriotra-Centre (**AZ-C**)	5.2	6.3	Début Décembre	Jachère
Site2	Antohobe (**AT2**)	5.3	11.2	Fin Novembre	Jachère
Site3	Antohobe (**AT1**)	5.1	NA	Début Décembre	Mais et Haricot
Site4	Ankazomiriotra 1(**AZ1**)	5.0	NA	Fin Novembre	Manioc

Site5	Ankazomiriotra 2(**AZ2**)	5.0	NA	Début Décembre	Mais et Haricot

Pour l'évaluation de la performance agronomique, les mêmes critères d'évaluation que ceux de l'évaluation précédente ont été adoptées. Mais, c'est surtout la variation du poids sec des panicules selon les niveaux de fertilité du sol qui a été évaluée.

Le dispositif expérimental pour tous les sites, est décrit dans le figure suivant :

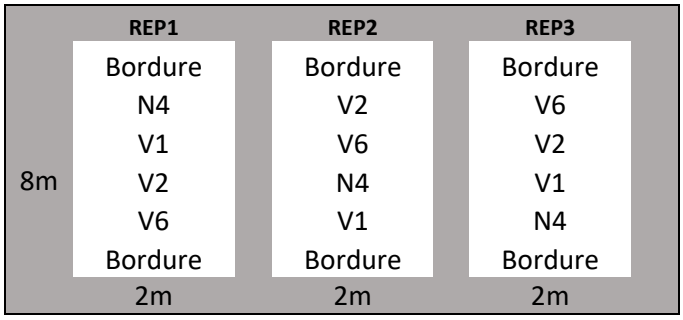


Figure 6: Dispositif expérimental de l'essai de rendement 2020-2021 (REP= Répétition)

Pour la seconde évaluation de rendement, durant la saison culturale 2021-2022, des différents types de fertilisation étaient adoptées. Les traitements de fertilisation étaient Zéro (Aucun traitement de fertilisation) - Fumier (Source aléatoire, provenant des agriculteurs)-, NPK (avec les unités fertilisantes respectifs de 25-25-33, TSP (25P) . Il est à noter que l'analyse de fumier n'a pas été fait, mais pour chaque répétition, les fumiers étaient de même source. Trois sites expérimentaux faisaient l'objet de l'expérimentation, à savoir : Antohobe 1 ou AT1, Antohobe 2 ou AT2 et Ankazomiriotra ou AZ.

Tableau 4: Caractéristiques des sites expérimentaux pendant la saison culturale 2021-2022

Site	**Coordonnées géographiques**	**PH du sol**	**P (mg/kg de sol)**	**Date de semis**	**Précédent cultural**
AT1	Antohobe 1	5.05	4.01 (P résine)	Fin Novembre	Jachère
AT2	Antohobe 2	5.3	11.2 (P Olsen)	Fin Novembre	Jachère
AZ	Ankazomiriotra-Centre	5.21	6.3 (P Olsen)	Début Décembre	Jachère

Le dispositif expérimental est le suivant :

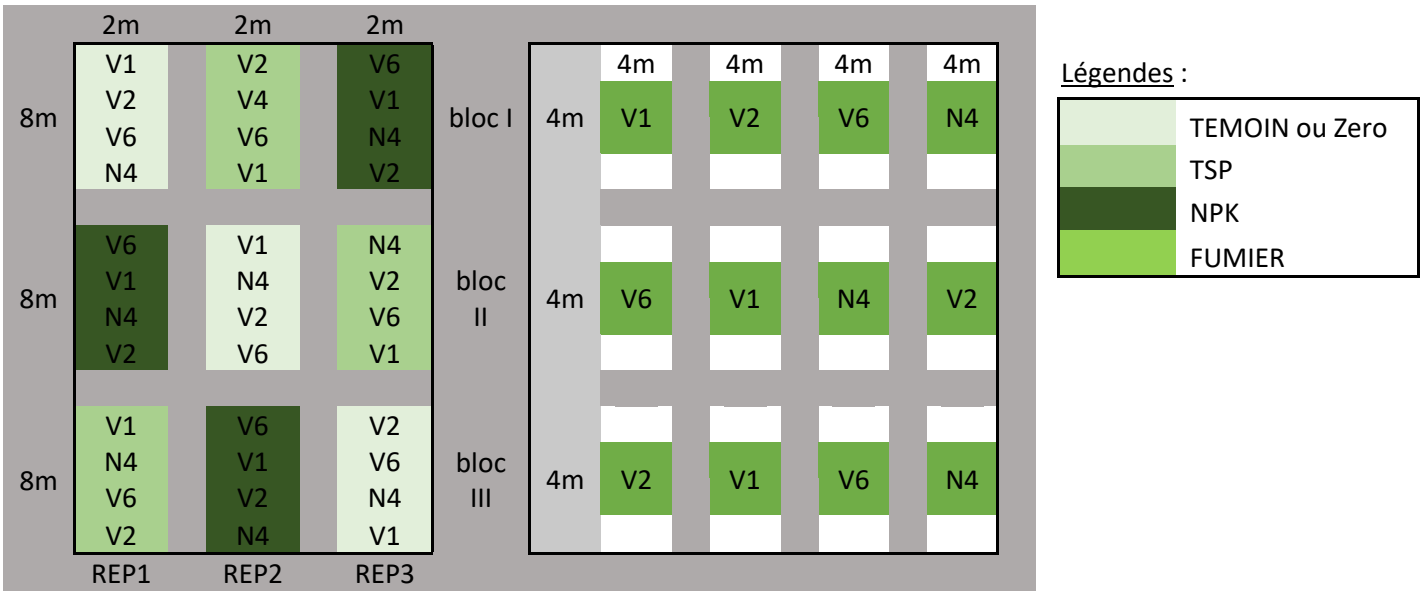


Figure 7: Dispositif expérimental de l'essai de rendement 2021-2022

2.2.2 Collecte de données

Les phénotypes qui ont été retenues pour l'évaluation étaient, le PDW, le CAF, le nombre de talles et SW. En effet, pour chaque lignée, huit plantes ont été échantillonnées dans le but de collecter les données. Le nombre de talles par plantes ont été comptées, au stade de fin tallage. Pour le poids sec, les panicules et les pailles, récoltées séparément par plante et ont été séchées dans l'étuve, a 65°C pendant trois jours. Puis, leurs poids respectifs ainsi que leurs humidité relative (à l'aide d'un humidimètre) ont été collectées. En addition, le CAF est obtenu à partir de la collecte de la date de floraison de 50% des plantes par lignées, au niveau des parcelles non fertilisées. Pour le rendement, les bordures ont été éliminées ensuite, les plants de riz dans la surface parcellaire de 2m X 2m ont été récoltés puis, séchés à l'air libre pendant cinq jours, dans le but d'obtenir de poids sec de panicule par plante. Il est à noter que l'humidité a été collecté à l'aide d'un humidimètre. A l'aide de PDW, une extrapolation a été faite pour le calcul du rendement en $t.ha^{-1}$, en utilisant 25 plants/m^2.

2.2.3 Analyse statistique

L'analyse statistique a été fait avec le logiciel STATISTIX (Version 10). Les lignées ont été évaluées suivant l'analyse de la variance ou ANOVA, avec un seuil de significativité P<0.05. Pour les essais de rendement, deux facteurs ont été retenus, le facteur génotype et le facteur traitement de fertilisation. Apres ANOVA, une analyse de comparaison multiple a été fait en utilisant le test de *Tukey*, (HSD).

2.3 Résultats

2.3.1 Caractérisation des parents

La figure 8, montre clairement la haute performance du parent DJ123 par rapport au parent Nerica4 dans presque tous les traits considérés. Trois différentes expérimentations, qui sont l'expérimentation au champ, l'expérimentation au *rhizoboxe* et l'expérimentation hydroponique, caractérisent les deux variétés en termes de nombre de racine (RN), poids sec des pailles (SW), poids sec des racines (RW) et poids sec total (TW).

Les trois expérimentations montrent une différence significative entre les deux variétés pour RN. Pour l'expérimentation en *rhizoboxe*, la valeur du nombre de racines de DJ123 est presque deux fois le nombre de celle de N4 (12 contre 7). De même pour SW, la valeur de N4 est de 124mg contre 215mg pour DJ123. Par contre, l'essai au champ ne donnait pas de différence significative pour le poids de la biomasse aérienne. D'ailleurs, les résultats sur RW pour l'essai au champ ont été omis lors de cet essai, d'où la valeur de la biomasse totale ne figure pas dans le graphe. Toutefois, l'essai en solution nutritive démontre que la biomasse totale de DJ123 est presque deux fois la valeur de N4 (75mg contre 43mg).

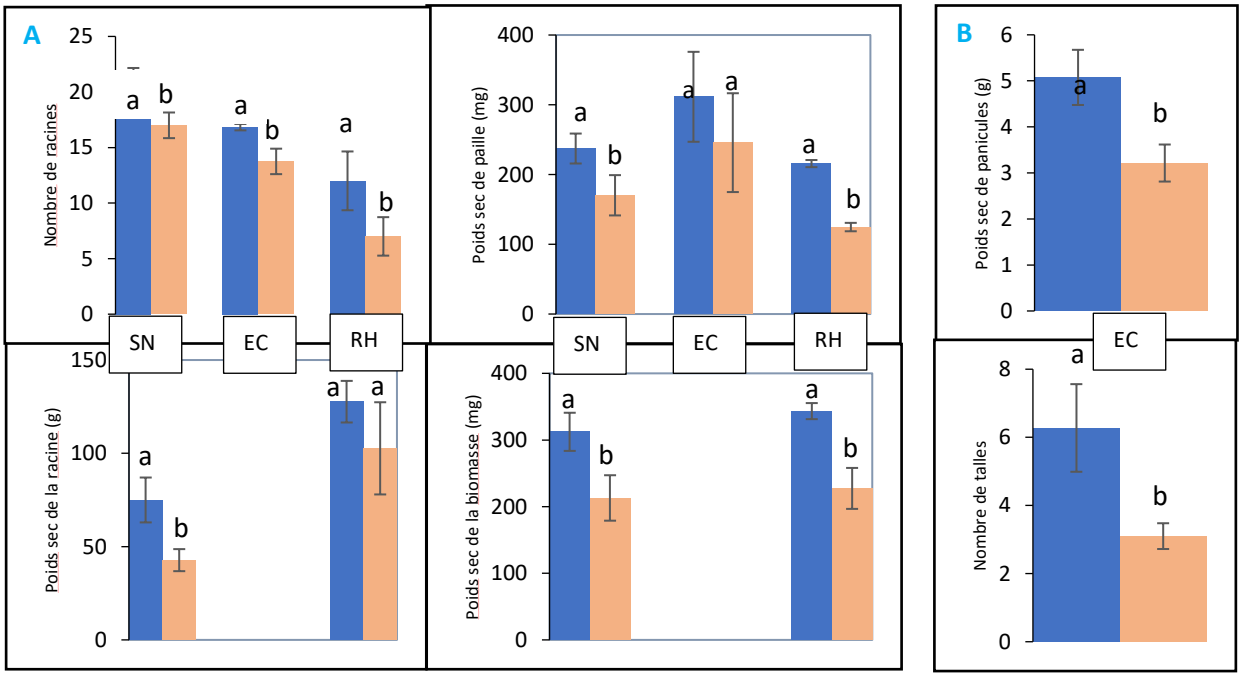


Figure 8: Caractérisation des parents DJ123 (bâton bleu) et N4 (bâton Orange). (A) : comparaison des deux parents sur trois expérimentations au Japon : Solution nutritive (SN), expérimentation au champ (EC), expérimentation au *Rhizoboxe* (RH). (B) : comparaison des deux parents lors d'un essai au champ, sis à Ankazomiriotra Madagascar, durant la saison culturale 2018-2019.

Au niveau des *tanety* de Madagascar, DJ123 et N4 de différencient nettement au niveau du nombre de talles et poids sec de panicules(fig.8B). Le nombre de talles de DJ123 (6) est deux fois plus que celui de N4. Pour le PDW qui est équivalent du rendement en grain, il existe une différence significative entre les deux cultivars. Ainsi, les résultats des expérimentations ex-situ et in-situ démontrent la suprématie de la variété DJ123 par rapport à la variété N4

2.3.2 Evaluation des lignées NDJ

Cette section comprend l'évaluation de 84 lignées NDJ, en génération F7 en comparaison avec DJ123, N4, CD et une variété locale nommée *Tsimanarihavana*. L'évaluation concerne les traits : CAF, PDW (rendement), SW et le nombre de talles. Il existe une différence significative entre les lignées en termes de CAF, de PDW et de nombre de panicules par plante. En effet, le PDW varie de 2.86g à 11.92g par plante, dont ceux de la variétés N4 et de CD sont respectivement 3.78g et 2.86g. Quatre-vingt-treize pourcents des lignées ont eu une valeur de PDW, plus élevée que la variété témoin N4, y compris les variétés de NDJ élites (V2 et V6), (bâtons rouges, contourés en vert) (**Fig.9A**). Pour le SW, seuls 21% des lignées ont eu une valeur supérieure à N4 (**Fig.9B**). Le CAF varie de de 76jours à 119 jours, dont les variétés témoins N4, CD et *Tsimanarihavana* avaient respectivement 104 jours, 91 jours et 117jours. Seules trois lignées, parmi les 84 lignées, ont un CAF supérieure à celui de N4 (**Fig.9C**). Il existe donc une différence de 28 jours au maximum entre le cycle des lignées et les variétés locales. Sur les 84 lignées, 25 ont été sélectionnées pour leurs performances en termes de cycle et de rendement dont deux plantes par lignées (au lieu d ;une seule plante) étaient sélectionnées pour certaines lignées, donnant ainsi un total de 34 lignées au total. La majorité des variétés sectionnées ont à la fois un cycle court et un haut rendement, toutefois certaines lignées ont été choisies pour leur performance soit en termes de cycle, soit grâce à leurs hauts rendements par rapport aux témoins (Cf. Annexe 3).

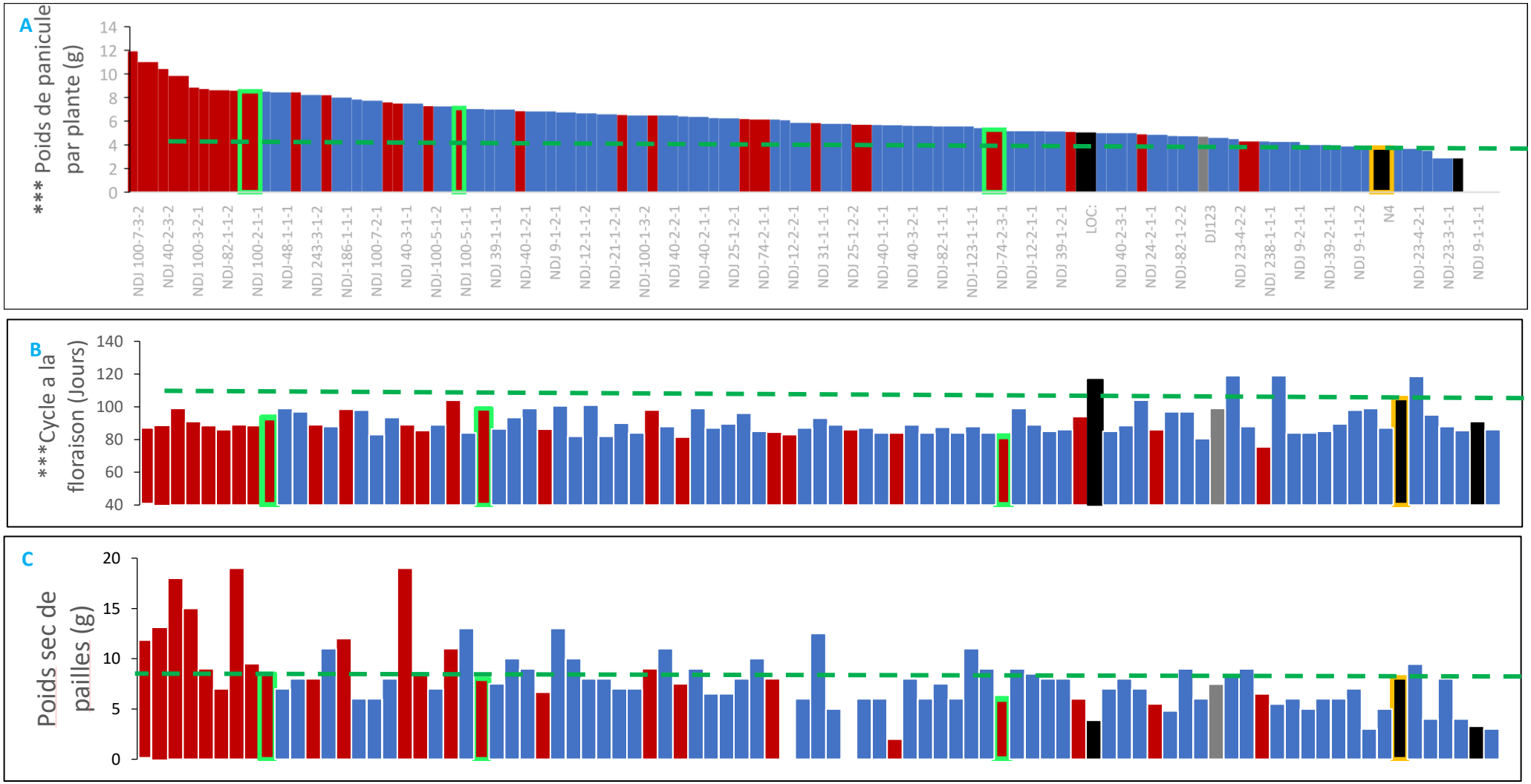


Figure 9: Evaluation des lignées NDJ, en génération F6 selon les traits Cycle (A) et (B) poids sec de panicule par plante. (*** indique une différence significative entre les lignées P<0.0001), les bâtons en rouges représentent les variétés sélectionnées pour la prochaine saison, les bâtons rouges, avec un contour est en vert représentent les variétés élites pour l'essai rendement, le bâton contouré en orange représente la variété témoin N4, les traits verts discontinus représentent le seuil basé sur la valeur de N4. Le bâton gris représente la variété DJ123 et les bâtons en noirs représentent la variété locale (*Tsimanarihavana*) et CD.

2.3.3 Essai de rendement

- **Génération F10 (2019-2020)**

Les variétés sélectionnées ont fait l'objet d'un essai de rendement, toujours sur sol déficient en P à Madagascar (Si analyse de sol disponible, sinon observation préalable des précédents culturaux), en comparaison avec les variétés témoins. En effet, 34 lignées issues de la génération F10, dont la ségrégation n'existe plus (stable), ont été évaluées, selon les mêmes critères de sélection que l'évaluation précédente, telles que le rendement, se référant à PDW, le CAF, le SW et le nombre de talles. Des différences significatives ont été observées entres les variétés, selon ces traits (**Fig.10**). Le CAF varie de 72 jours à 87 jours, avec 87 jours pour N4. Pour le poids sec de panicule par plante, la valeur varie de 5.34 g. plante^{-1} à 13.87 g. plante^{-1}, et il est à noter que ces valeurs sont différentes significativement entre elles. Par méthode d'extrapolation (25 000 plantes par hectare), le rendement varie entre 1.33t.ha^{-1} et 3.46t.ha^{-1} . Le rendement de N4 et CD sont respectivement 2. 08t.ha^{-1} et 2.32t.ha^{-1}, qui sont significativement plus faible que celui de la lignée NDJ100-2-1-1-1 (3.47 t.ha^{-1})de NDJ100-3-2-1 (3.45t.ha^{-1}) et de NDJ100-1-1-1-1 (3.13 t.ha^{-1}). Les lignées NDJ100 sont plus performantes en termes de rendement qu'en terme de CAF, du fait que sur les 34 lignées, 23 lignées ont eu un CAF inferieure a celle de N4 (Fig10.A, bâtons en gris). Les lignées 155-2-1-1-1 et 74-2-3-1-1 ont été sélectionnées pour leurs cycle court, dont leur CAF est respectivement, 65jours et 70 jours, significativement supérieurs à celle de N4. Toutefois, d'autres aussi ont un cycle court mais n'étaient pas sélectionnées, a cause d'autres traits qualitatifs. Les lignées 100-3-2-1 et 100-1-1-1-1, ont à la fois été différentes significativement de N4 en termes de cycle et rendement. Mais à la fin, pour les essais d'évaluation de rendement pour la prochaine saison, seules les lignées **100-2-1-1-1(Notée V2**), **74-2-3-1-1 (Notée V6), 100-5-1-1-1 (Notée V1)** ont été sélectionnées : V6 pour son cycle court et un rendement élevé par rapport a N4 mais non significatif ; V2 pour être une variété, ayant a la fois un CAF significativement plus court que N4 et un rendement significativement plus élevé que celui de N4, ainsi que ceux des variétés locales.

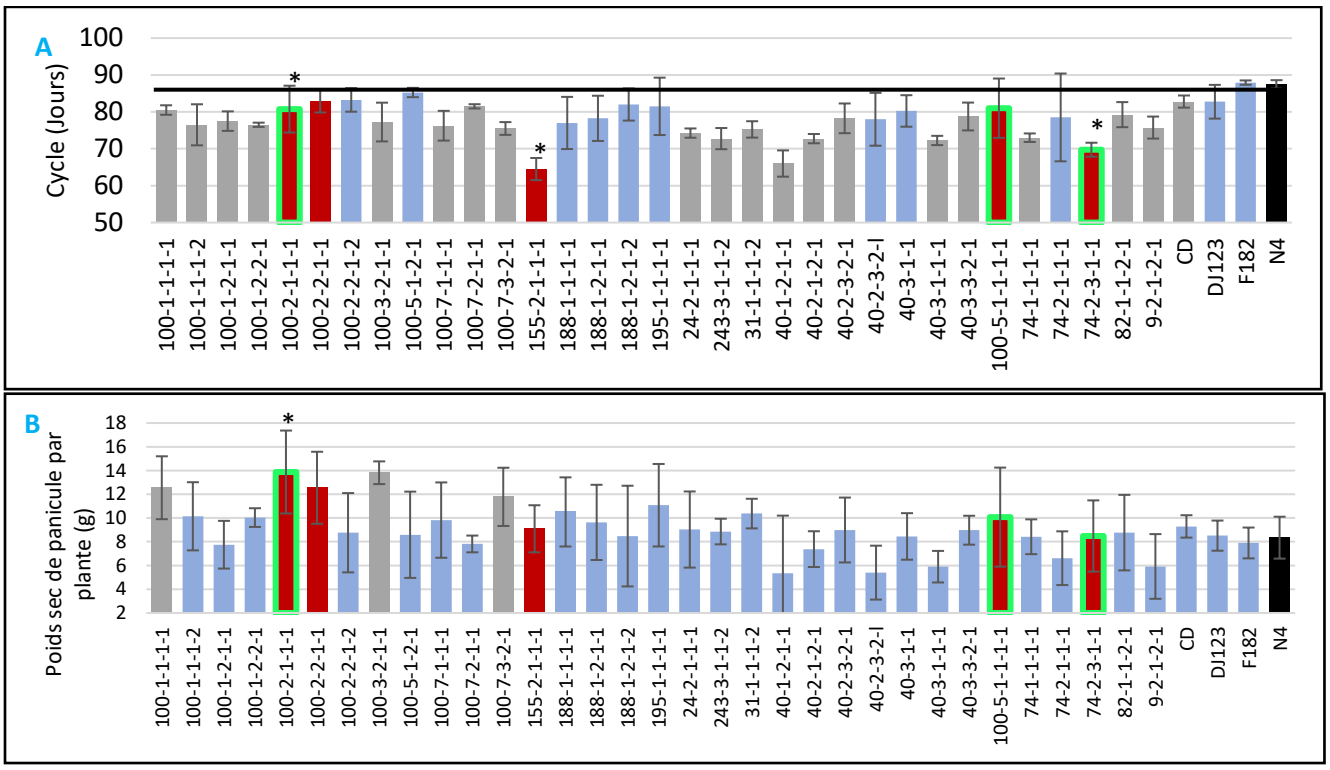


Figure 10: Evaluation des lignées NDJ (Génération F8), selon le rendement (B) et le cycle (A) durant la saison culturale 2019-2020. Les bâtons en rouges représentent les variétés/lignées sélectionnées, tandis que les bâtons en gris, sont les variétés qui ont des valeurs significativement plus élevées que celles de N4 mais ne sont pas sélectionnées. L'étoile (*) représente les variétés sélectionnées, dont les valeurs sont significatives par rapport à N4.

d) Génération F12-F14 (2020-2022)

L'essai de rendement est reparti sur deux saisons pluviales (2020-2021 et 2021-2022), ayant cinq sites (dont AZ1, AZ2, les trois sites AT1, AT2 et AZ) au total et quatre traitements de fertilisation (seulement pour la seconde saison) dont : fumier, TSP, NPK et Témoin (Sans apport de fertilisation). La **figure 11** montre les tendances des variétés en termes de rendement, selon les sites. Il est à noter que sur l'axe des abscisses, il y a la moyenne de rendement par site et par traitement ; sur l'axe des ordonnées, le rendement des génotypes, moyennant trois répétitions est représenté. Selon le niveau de fertilité, la courbe de tendance de N4 est exponentielle, allant de 1.20 $t.ha^{-1}$ à 6.21$t.ha^{-1}$ (**Fig.11A**). Par contre pour V6, avec un site pauvre en P, son rendement est beaucoup plus élevé que celui de N4 (**Fig11.B**), mais au fur et à mesure que le niveau de fertilité augmente, son rendement reste presque stable et constant, concluant que V6 n'est pas réactive à l'augmentation de la fertilité du sol. Au niveau des sites dont le rendement moyen va de 1.44 $t.ha^{-1}$ à 1.9 $t.ha^{-1}$, V2 est la plus performante (**Fig11.B**), toutefois, au niveau des sites fertiles (et ou fertilisées) , N4 est beaucoup plus performante mais la différence n'est pas large (**Fig11.A**). Pour le cas de V1, son rendement augmente au fur et à mesure que le niveau de fertilité augmente, mais sa performance maximale est beaucoup plus faible que celle de N4, ainsi que de V2.

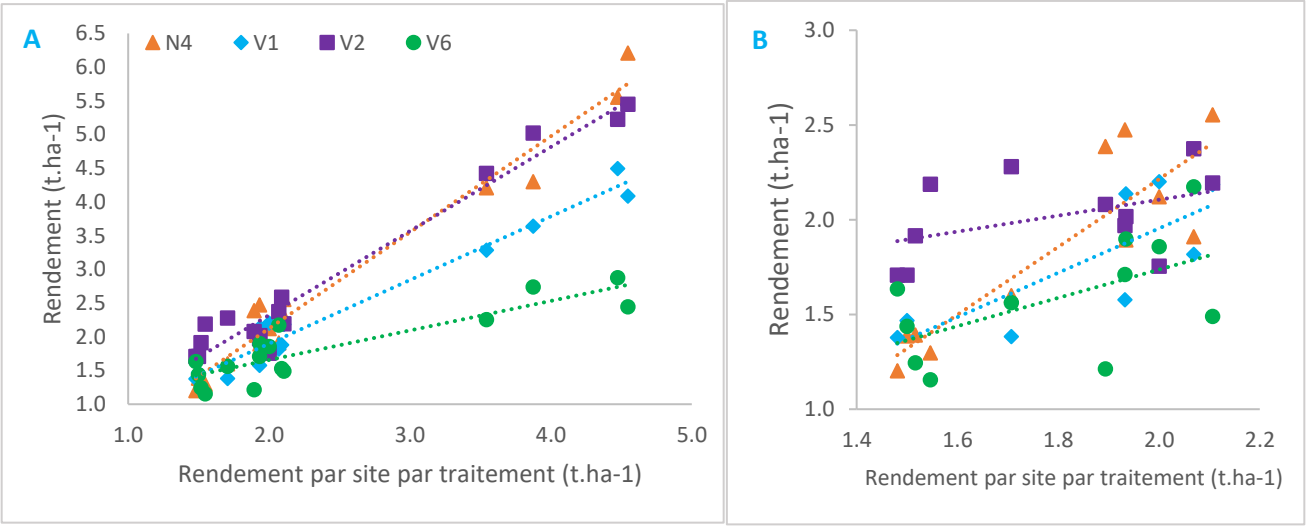


Figure 11: Courbe de tendance de rendement des variétés V1, V2, V6 et N4 selon la fertilisation et les sites, pour les saisons culturales (2020-2021 et 2021-2022). (A) : Courbe de tendance, avec cinq sites et quatre traitements de fertilisation. (B) : Courbe de tendance avec six sites (omettant le site la plus fertile), et quatre traitements de fertilisation.

Pour la saison culturale de 2020-2021 (**Fig.12**), il est à noter qu'aucun traitement de fertilisation n'a été apporté, de ce fait, le rendement variait de 0.85 t.ha^{-1} à 3.57t.ha^{-1}. Toutefois, la variation du rendement par site (n=5) a été significative, allant de 1.5t.ha^{-1} à 2t.ha-1 (**Fig.12A**). Le rendement variait selon le niveau de fertilité du sol de chaque site expérimental. La variété V2 étant la plus performante avec 2.18 t.ha^{-1}, significativement différent de V1 et V6 mais n'ayant pas de différence significative avec N4, avec 1.95t.ha-1 (**Fig12.B**). Malgré qu'il n'y ait eu de différence significative entre l'interaction Site X Génotype, la figure 11.B confirme que V2 est toujours la plus performante au niveau des sites dont le rendement moyen est moins de 2t.ha^{-1}.

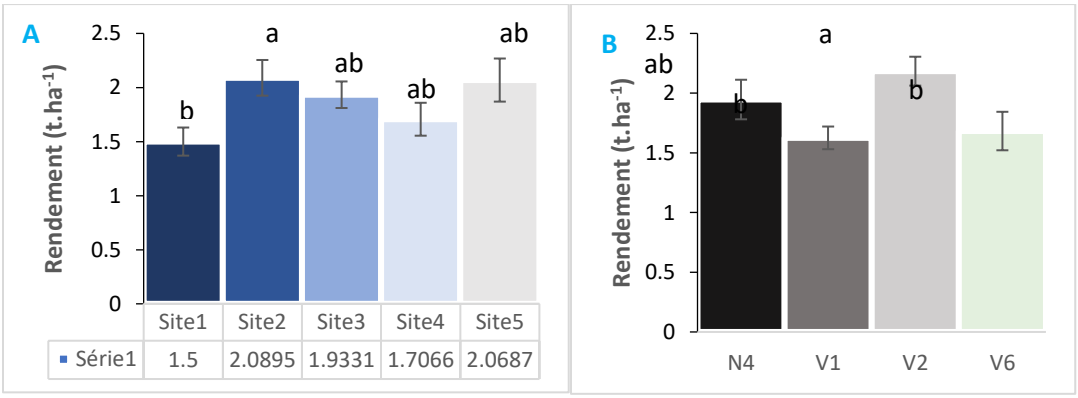


Figure 12: Variation du rendement par site (A) et par génotype (B) pour la saison culturale 2020-2021. (ANOVA, avec seuil de significativité P<0.05, Comparaison multiple, Test de Tukey, Alpha=0.05, ou les groupes a et b sont différents significativement)

Pour la saison culturale 2021-2022, où, il y a eu un facteur traitement (fertilisation), il y a une différence significative entre les trois sites en termes de rendement, dont AT1 et AZ sont du même groupe, donnant

des valeurs deux fois plus faibles que celui du site AT2. Au niveau de ce dernier site, le rendement moyen est de 4.11t/ha, ensuite vient le site AZ, avec un rendement de 1.87t/ha et enfin au sein du site AT1, le rendement moyen est de 1.65t/ha (**Fig13.A**). Pour AT2 seul, il n'y avait eu de différence significative entre les traitements de fertilisation (**Fig12.B**), vu le sol est riche. Par conséquent, au niveau du site AT2, N4 et V2 sont des plus performantes dont leurs rendements sont différents significativement de ceux de V1 et de V6.

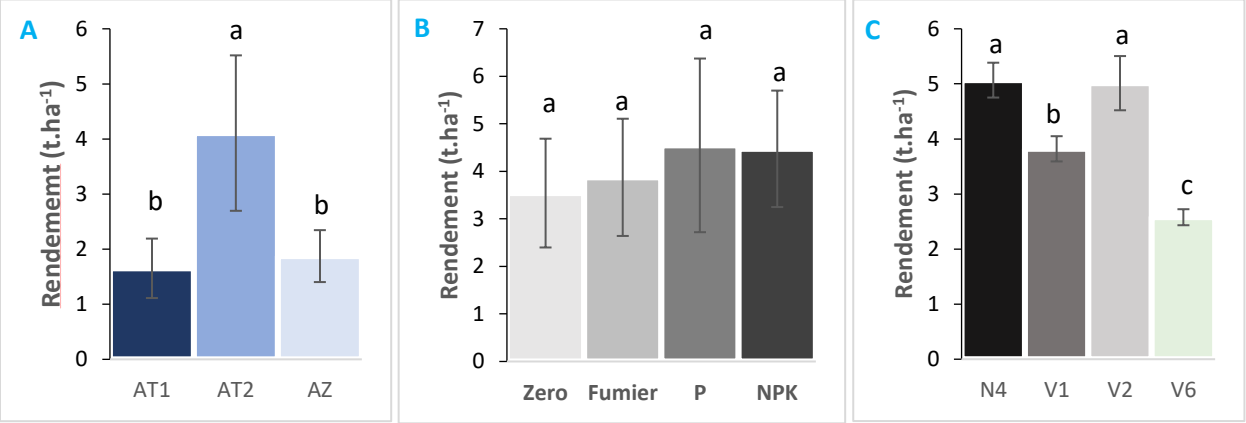


Figure 13: Variation du rendement pour la saison culturale (2021-2022). (A) : Comparaison du rendement par site. (B) : Comparaison du rendement par traitement pour le site AT2. (C) : Comparaison du rendement par génotype pour le site AT2. (ANOVA, P<0.05 ; test de Tukey alpha=0.05 ou les groupes a et b sont différents significativement).

Toutefois, au niveau des deux sites AT1 et AZ, il existe une différence significative entre les traitements, les variétés et l'interaction entre le traitement et les variétés (Cf. Annexe 4). Ne considérant que le traitement zéro de ces deux sites, c'est la variétés V2 qui est la plus performante en termes de rendement, dont la valeur est de 1.81t.ha^{-1}, contre 1.30t.ha^{-1} pour N4 (**Fig.14**). Par ailleurs, V6, dont le rendement était toujours inferieurs par rapport à N4 ici, n'a pas de différence significative avec V2. V6 est donc plus performante à un niveau de fertilité plus faible.

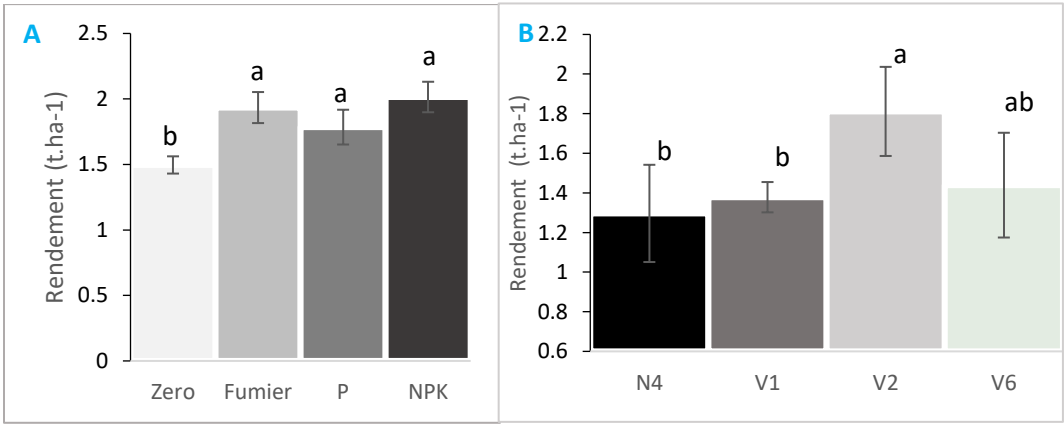


Figure 14: comparaison du rendement entre les traitements et les génotypes pour les deux sites AT1 et AZ. (A) : Comparaison du rendement entre les traitements. (B) Comparaison du rendement entre les génotypes, pour le traitement Zéro.

2.3.4 Cycle à la floraison

En effet, 4 sites ont été considérées lors de l'évaluation du CAF. Il existe une différence significative entre le cycle à la floraison en fonction des variétés et les sites d'expérimentation. Les détails sur les sites d'expérimentations sont décrits dans le tableau 3 et 4. Les sites AZ et site5 diffèrent significativement entre les sites site1 et site4 (**Fig14.B**). La variation du CAF entre les sites est donc liée au niveau de fertilité de sol.

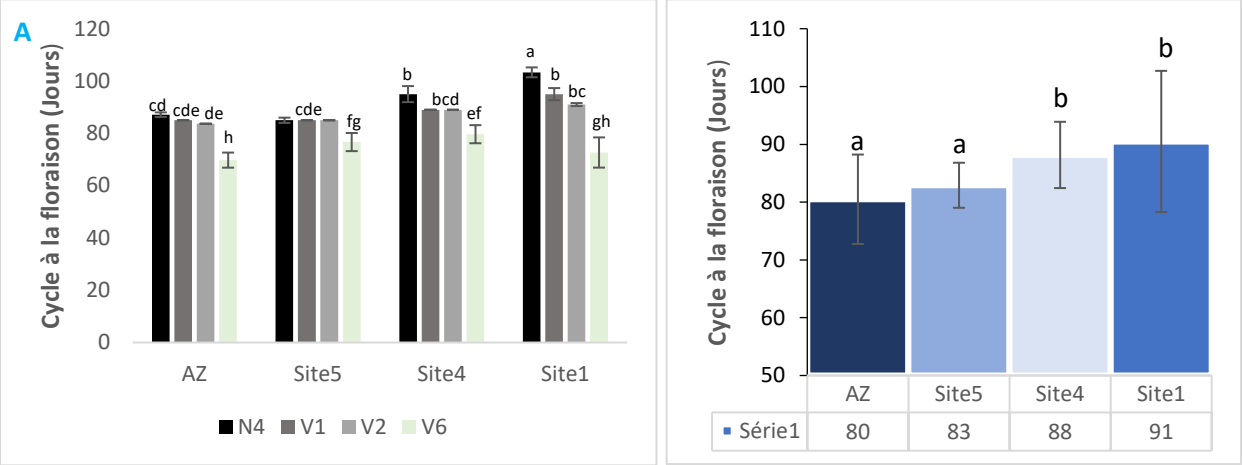


Figure 15: Variation du cycle à la floraison selon la variété et les sites. (A) Interaction entre cycle à la floraison des variétés V1, V2, V6 et N4 et les sites expérimentaux durant la saison culturale 2019-2021. (B) Cycle à la floraison selon les sites expérimentaux.

V6 est la plus performante en termes de CAF, avec une durée moyenne de 75 jours, tandis que N4 en la durée moyenne la plus élevée de 93 jours. La différence du CAF, entre ces deux variétés est donc de 18 jours en moyenne. Il existe une interaction entre le site et le CAF pour les 4 variétés (**Fig.15**). En effet, selon le site d'expérimentation le cycle de V6 varie de 70 jours à 80 jours. Il est à noter que ces valeurs sont différentes significativement avec celles des trois autres variétés, peu importe le site expérimental. Le CAF de N4 est la plus élevé, allant de 87 jours à 103 jours. En effet, la durée de CAF est plus longue au niveau du site1, pour toutes les variétés. Au niveau de ce site, il existe une différence significative entre le CAF de N4 et ceux des trois autres variétés (V1, V2 et V6). Par contre, pour les 3 autres sites, il n'existe pas de différences significatives entre N4, V1 et V2.

Comme conclusion partielle de ce chapitre 1, le niveau de fertilité du sol influence le rendement et la durée de cycle de chaque variété. Aussi, chaque variété a sa propre réponse face au niveau de fertilité du sol. Dans un milieu pauvre, comme pour les sites : site1, AT1 et AZ, V2 est la plus performante en termes de rendement. De plus pour le site1, des différences significatives s'observaient entre le CAF de N4 et les trois autres variétés. Par ailleurs au niveau des sites plus riches, telles que AT2, il n'y a pas de différences

significatives entre le CAF de N4, V1, V2 et V6. De plus, N4 est la plus performante en termes de rendement au niveau du site AT2. Les trois variétés V1, V2 et V6 sont meilleurs que N4 seulement en milieu pauvre.

2.4 Discussions

3.5.1 Sélection par descendance de variétés de riz pluvial pour les hautes terres de Madagascar

La riziculture pluviale reste une alternative pour l'autosuffisance alimentaire à Madagascar, grâce à la disponibilité des terres arables. Au niveau des HTC, le début de la riziculture pluviale était possible en 1984, après que le CIRAD y a introduit des variétés tolérantes au froid puis à la pyriculariose. La variété la plus populaire et adoptée était CD, avec un taux d'adoption de 80% (Raboin et al., 2013). Cette variété a été aussi populaire même dans les zones du Moyen-Ouest, ou l'altitude est en dessous de 1500m et que des *tanety* sont favorables pour la riziculture pluviale (Breumier et al., 2018). Toutefois, de nouvelles variétés, venant de l'Afrique de l'Ouest ont été introduites, dont la variété N4, appelé aussi *Vary Mavokely*. Cette dernière a eu le plus de succès dans cette région (Moyen-Ouest, y compris Ankazomiriotra et Mandoto), grâce à sa haute tolérance à la plante parasite *striga*, que la variété CD n'était pas capable de combattre (Source : enquête auprès des riziculteurs). Malgré cela, N4 ne donnait pas de rendements satisfaisant en condition de faible fertilité de sol, contrairement à la variété DJ123, qui est une variété tolérante. La caractérisation de ces deux cultivars, au Japon et à Madagascar ont encore validé les affirmations des auteurs, stipulant que N4 est significativement moins performante que DJ123 en milieu pauvre en P (Saito et al., 2015b ; Akatora et al., 2015 ; Vandamme et al., 2018 ; Wissuwa et al., 2020). De plus, les essais au niveau des *tanety* de Madagascar ont révélé de nettes différences entre ces deux parents, (**Fig.8**) ce qui nous amène à déduire qu'au niveau des sols appauvris en P des HTC malagasy, N4 est moins performante. Les traits d'évaluation était au niveau des phénotypes qui sont liés à la productivité de la plante : le nombre de racine (pour une meilleure acquisition de P dans le sol) et la biomasse racinaire ainsi qu'aérienne (indicateurs d'acquisition et utilisation de P, malgré sa faible proportion dans le sol) de P. Par ailleurs, les critères de sélection des lignées NDJ étaient le poids sec de panicules qui représente le rendement et qui demeure un critère primordial des paysans pour choisir des variétés à cultiver (Randrianarisoa et al., 2003), le cycle à la floraison (CAF) qui demeure un critère essentiel, et le SW qui indique une bonne croissance et développement des plantes. En outre, des critères qualitatifs, s'avérant très importantes ont été considérés. La figure 16 démontre les étapes de la sélection des variétés, aboutissant à l'obtention de trois nouvelles variétés, notées V1, V2 et V6. Suivant les expérimentations depuis la génération F7, V2, notée NDJ-100-2-1-1-1 est remarquablement plus performante en termes de PDW, dont la valeur est significativement différente de N4. Toutefois, au niveau du CAF, NDJ-100-1-1-1-1 est similaire à N4 et CD. Par contre d'autres lignées ont été plus performantes

que V2 (en termes de productivité) mais n'ont pas été sélectionnées en raison des caractéristiques telles que la présence de longs poils au niveau des grains, le non-tolérance a la verse et la qualité des grains.

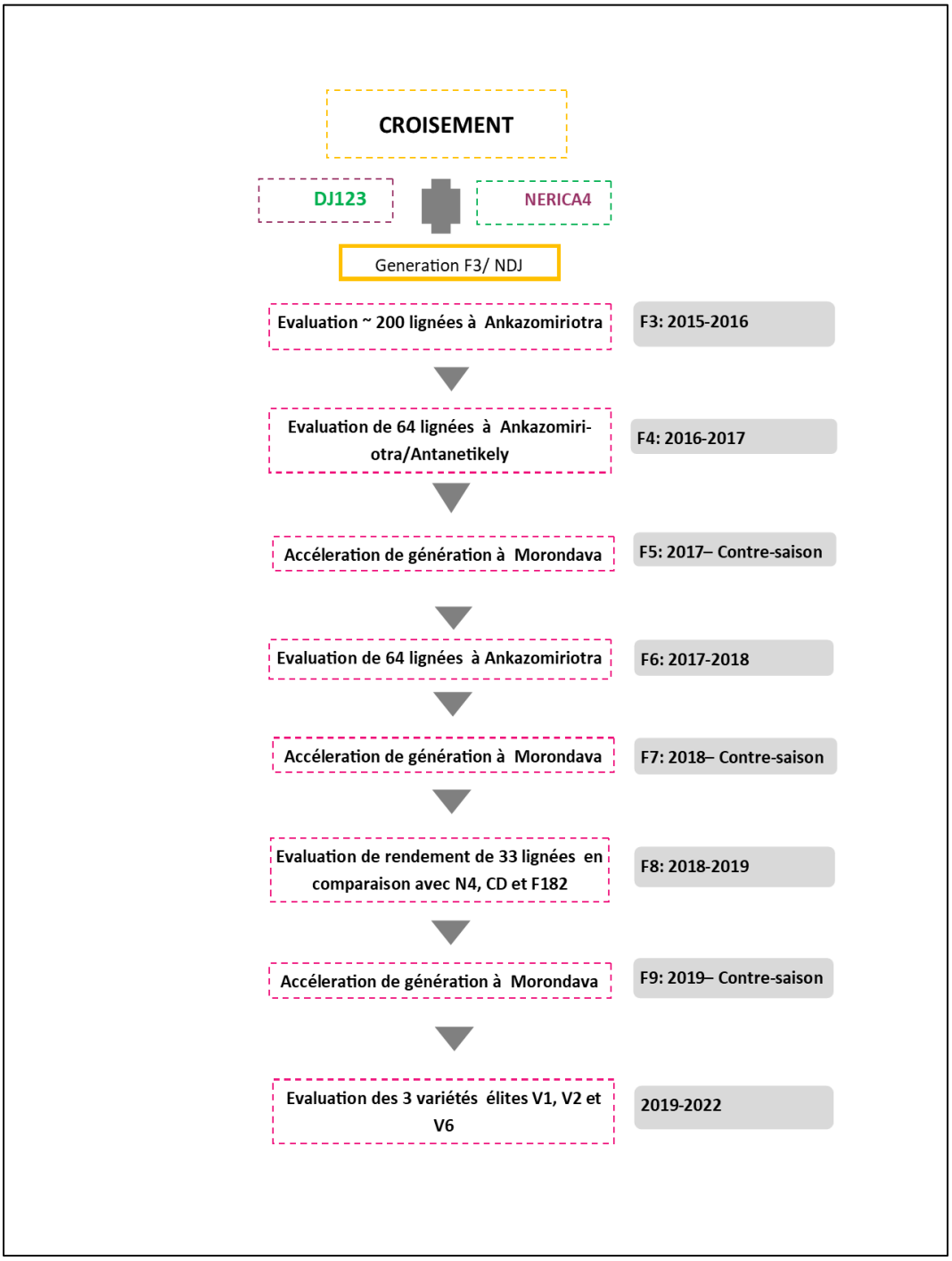


Figure 16: Résumé de l'étape de la sélection par descendances des lignées NDJ.

3.5.2 Variation de la performance des variétés (cycle et rendement) de riz selon le niveau de fertilité

Le pH du sol lors des expérimentations était aux alentours de 5, indiquant un sol acide. Ces sols fixent le P disponible dans le sol, limitant ainsi la capacité des plantes à l'acquérir. Malgré que d'autres résultats,

concernant la quantité de P disponible dans le sol étaient absents, le pH du sol pourrait être un bon indicateur de la fixation de P dans le sol (Price et al., 2006) et que seules les plantes adaptées à cette condition sont capables d'avoir une bonne productivité au niveau de ces sols.

Performance en rendement en grains des lignées NDJ par rapport aux variétés témoins

La première évaluation des lignées NDJ en génération F7 (fig.9) a montré que 93% des lignées, semées ont eu une valeur supérieure à celle de N4 en termes de poids sec de panicules par plantes. Toutefois, la variété CD est aussi une variété populaire, avec un taux d'adoption de 80% dans la région de Vakinankaratra. Lors des évaluations la variété CD en comparaison avec les lignées NDJ, ces dernières ont eu un gain en termes de poids sec de panicules de 54.31%. En effet, CD tolère la déficience en P plus que N4 selon Rakotoson et al., 2021. Pourtant, les attaques de la plante adventice *striga* a limité le rendement de CD lors des essais à Ankazomiriotra. Durant la seconde évaluation, (génération F10), les gains de rendement de la plus performante lignée NDJ (NDJ100-2-1-1-1), notée aussi V2, par rapport aux variétés N4 et CD sont respectivement de 1.39t.ha^{-1} et 1.15t.ha^{-1}. Par ailleurs, les résultats stipulés par Rakotoson et al., en 2021 démontrent la suprématie de la variété DJ123, en termes de taux de P dans la plante, ainsi que la biomasse (aérienne et racinaire) par rapport à N4 et CD e milieu pauvre en P. Ces résultats indiquent que DJ123 est plus tolérante que CD dans un sol déficient en P. Parallèlement, dans ce chapitre, les gains de rendement de V2, qui est une variété, descendant de DJ123, par rapport à N4 et CD sont en corrélation avec ces résultats. DJ123 a donc transféré des traits génotypiques de tolérance à la déficience en P, optimisant donc un rendement supérieur à N4. Toutefois, au fur et à mesure que le niveau de fertilité du sol augmente, le rendement augmente dans toutes les expérimentations.

Variation de la performance des lignées NDJ et de la variété N4 selon le site expérimental et le type de fertilisation

Le rendement en grain variait selon les sites, la fertilisation et la variété. D'ailleurs, pour l'évaluation de rendement en 2020-2021, dont aucun traitement de fertilisation n'a été appliqué, il y a eu une différence significative entre le rendement de chaque site, du fait que le taux de P disponible varie d'une parcelle a une autre (Nishigaki et al., 2019). Pour la saison 2021-2020, où il y a eu des traitements de fertilisation, des différences significatives entre les variétés et entre les traitements ont été observés, au niveau des sites où le niveau de fertilité du sol est faible. Par ailleurs, entre les traitements fumier, NPK et TSP, aucune différence significative n'a été identifié pour AT2 , c'est-à-dire que l'ajout de 25N dans le sol n'améliorait pas le rendement. Par déduction, soit le sol est déjà riche en azote, mais déficient en P, soit 25N n'est pas suffisant pour une augmentation significative de rendement. Néanmoins, le site AZ2 a eu un rendement moyen de 3.5t/ha pour le traitement Zéro, et vu qu'il n'y a eu de différence significative entre les 4 traitements, le sol est jugé riche, malgré l'absence des indications sur le taux de P disponible et de l'azote dans le sol. Mais il est à noter que sans la confirmation d'une analyse de sol, ces conclusions restent des

hypothèses. Lors des essais à Madagascar, le rendement moyen lors de l'application de 25kg/ha de P avec l'ajout de fumier a donné un rendement de 3.2t/ha a 6t/ha en moyenne, alors que le fumier ou le TSP seul n'a donné que 1.2t/ha (De Bauw et al., 2020b). Cet auteur a conclu que l'application du fumier a amélioré le pH du sol, ce qui a pu améliorer la disponibilité du P. Néanmoins, pour les sites AT1 et AZ, il y a eu une différence significative entre le traitement zéro et les 3 autres traitements fumier, TSP et NPK. Il faut dire qu'au niveau de ces deux sites, une réponse par rapport à l'application de P dans le sol a été observé, contrairement à l'application de N et l'application du fumier seul a eu un effet significatif sur le rendement en grain. Comme, P limite le rendement du riz pluvial (Raminoarison et al., 2020), et l'application de fumier (dose non précise) et TSP avec une dose de 25Kg de P/ ha a amélioré significativement le rendement, le site AT1 et AZ sont donc pauvres ao P disponibles, et la variété V2 est la variété qui s'y adapte le mieux. Toutefois, comme De Bauw a stipulé dans son étude, le fumier a amélioré de pH, rendant P plus disponible, en addition des nutriments qu'il a pu apporter, mais l'utilisation des variétés adaptées (améliorées), contribuent à la hausse du rendement (Fageria et al., 2001). Nous pouvons donc déduire qu'au niveau d'un sol pauvre en P disponible, V2 est la plus performante comparé à V1, V6, N4 et même CD. Par ailleurs, N4 est plus performante en milieu fertilisé, ou même quand le sol est riche, comme pour le cas du site AT2. Ces résultats coïncident avec ceux de Saito et al (2014), de Vandamme et al., (2018) et de Wissuwa et al., 2020 stipulant que N4 est très performante en milieu fertile. Néanmoins, V2 et N4 n'ont pas eu de différences significatives en termes de rendement, même au niveau des sites plus fertiles. Par conséquent, les agriculteurs pourront donc aussi cultiver V2 au lieu de N4 en conditions de sols plus riches (ou *tany masaka*).

Variation du CAF

Le CAF est un trait, variant d'une variété a une autre, qui définit et détermine la durée totale du cycle d'une variété. Pour chaque expérimentation, la durée du CAF de chaque variété variait d'une saison culturale une autre, d'un site a un autre et selon les traitements de fertilisation. En effet, les 4 sites ou le CAF a été collecte étaient AZ, site1 , site4 ou AZ et site5 ou AZ2, avec un rendement moyen respectif de 1.8t.ha^{-1}, 1.5t.ha^{-1}, 1.6t.ha^{-1} et 2t.ha^{-1}. AZ2, ayant un sol plus riche que les autres, correspond à une durée de cycle plus courte pour toutes les variétés. En effet, des recherches ont avancé que le P favorise l'accélération de la durée du cycle des plantes, notamment le riz (Rakotoarisoa et al., 2020). Pour la riziculture irriguée, une meilleure application de P, en utilisant la technique de trempage de racines a accélérée la durée du cycle du riz en, 14 jours, par rapport sol n'ayant reçu aucun traitement de fertilisation (Rakotoarisoa et al., 2020). De ce fait, cette récente étude a conclu que plus le sol est riche en P disponible, plus la durée du cycle est réduite. Pour N4, la durée de CAF a été réduite de 15 jours. Néanmoins, V6 était la variété la plus performante en termes de durée CAF, dont la différence maximum

avec N4 était de 31 jours, au niveau du site1. En fait, même si N4 était cultivée au niveau d'un sol riche en P, comme pour le cas de site5, et V6 au niveau de site 1 (site non fertile), la différence en termes de CAF était significative entre les deux variétés. Par conséquent, la précocité de V6 ne vient pas du parent N4. Selon la figure 9-B, la différence entre le CAF de N4 et DJ123 était de 17 jours ; ce qui stipule que la variété D123 est plus précoce que la variété N4. Toutefois, le CAF de V6 est beaucoup plus court de celui de DJ. Cependant, le croisement entre les deux parents a donné des lignées plus précoces que les deux parents. Sur les HTC de Madagascar, la déficience en P augmente le cycle de 6 à 24 jours (Andrianary et al., 2021). Cependant, la mise en culture de V6 serait une bonne alternative à ce problème, surtout au niveau des sites avec un altitude plus élevé (altitude >1300m), vu que même au niveau d'un sol très pauvre, son CAF par rapport à N4 est toujours significativement plus faible.

2.5 Importance de la sélection de lignées efficientes en P conclusions

Dans ce chapitre, toutes les expérimentations ont été conduites au niveau des sols dont le taux de P disponible est moins de 8mg/kg de sol (résultats d'analyse de sol en attente). Les lignées NDJ, issues du croisement entre la variété tolérante DJ123 et la variété populaire N4 a donné les lignées NDJ. Le processus de sélection de ces lignées, à partir de la génération F4 jusqu' à la génération, F10 ? a abouti à l'obtention de trois variétés élites, V1, V2 et V6 qui étaient jugées performantes que N4, en milieu déficient en P. Les variétés de riz pluvial V2 et V6 ont été respectivement sélectionnées pour leurs performances significatives par rapport à la variété populaire N4, selon les traits, rendement en grain et précocité. La variété V2, a eu un rendement plus significatif par rapport à, N4 et V6 au niveau des sites ou aucun traitement de fertilisation n'a été appliqué, et dont le niveau de P disponible a été faible. Ce niveau a été obtenu lors des interprétations de rendements moyens par sites. De plus, cette variété est plus précoce que N4, lui conférant un atout agronomique indispensable pour les agriculteurs de la région d'Ankazomiriotra et d'Antohobe. Par ailleurs, la performance de la variété V6 en termes de productivité a été significativement plus faible que celle de N4 en milieu fertile, mais non significatifs en milieu déficient. Mais il est à noter que V6 est une variété précoce avec un CAF de 70 jours à 80 jours, variable selon le site d'expérimentation. Pour la variété V1, sa performance n'était pas significative avec N4 ni en milieu fertilise qu'appauvris en P. La sélection de ces trois variétés en 10 générations et 6 saisons culturales au niveau des HTC malagasy, a permis d'identifier leurs traits de performances que le parent DJ123 leurs a transféré, à savoir la tolérance a la déficience en P pour V2 et la précocité pour V6. Néanmoins, ces dernières conviennent aux agriculteurs qui n'appliquent guère ni de fertilisants organiques ni chimiques, car avec ces conditions, ils auront quand même un rendement plus de 1.5t/ha pour V6 et aux alentours de 2t/ha pour V2 (1.2t/ha pour N4), avec un CAF plus précoce que les variétés locales *Tsimanarihavana*, N4 et CD. Ces performances seront indispensables surtout pour les agriculteurs

marginaux, qui n'ont pas accès ni à la fertilisation organique ni minérale ; de plus, la précocité serait un atout pour eux, dans la résilience face au changement climatique. Toutefois, la richesse en éléments nutritifs et le gout de ces nouvelles variétés qui sont aussi des traits importants ne sont pas encore identifiées mais seront traitées ultérieurement.

Chapitre 3 : Evaluation et caractérisation physiologique des variétés sélectionnées.

3.1 Introduction

Le faible niveau de P dans le sol est un facteur majeur du faible rendement du riz, au niveau des agriculteurs dont les ressources sont moindres (Hedley et al., 1994). Ce problème est courant au niveau des pays de l'ASS, vu que le sol y est de type Oxisol. Ces sols sont connus pour une haute fixation de P, à cause de l'abondance des oxy/hydroxydes de fer. Ces derniers fixent le P, le rendant non-disponible pour la plante . Cependant, l'application des fertilisants reste une alternative pour les agriculteurs. Toutefois, l'application des fertilisants représente une large proportion de dépenses pour la riziculture intensive (Lacy et al., 2006). Pourtant, P est une ressource non-renouvelable dans laquelle l'exploitation de la roche phosphate pourrait atteindre ses limites, ce siècle en cours (Cordell et al.,2009). Cela pourrait induire une hausse de prix des fertilisants phosphatés, ainsi, affecter la production rizicole, surtout pour les pays du tiers monde. En effet, les agriculteurs au niveau de l'ASS pratiquent l'agriculture familiale, dont leurs ressources financières ne leur permettent pas d'acheter plus de fertilisants minéraux (chimiques) dans le but de pallier le problème de limitation de P disponible su dol et accroitre ainsi le rendement du riz. Due à la pauvreté et au manque de subventions et de facilitation d'accès aux crédits, des agriculteurs de l'ASS (Akinkunmi, 2017), Madagascar, l'une des plus grandes productrices de riz en Afrique, figure parmi les pays dont le taux de fertilisation minérale est faible. En effet, l'application annuelle de fertilisants est estimée à 8.7 kg N ha^{-1}, 1.1 kg P2O5 ha^{-1} and 1 kg K2O ha^{-1} en 2017 (FAOSTAT, 2019). Une solution durable réside alors au niveau des gestions et exploitation de la matière organique, qui reste accessible (Andriamananjara et al., 2018 ; Rinasoa et al., 2022) et à faible prix à Madagascar et la capacité d'adaptation des variétés de riz face à la déficience en P disponible dans le sol. En effet, la tolérance des variétés de riz pluvial a la déficience en phosphore varie selon les génotypes (Rose et al., 2013 ; Vandamme et al., 2016). De nombreuses études ont montré des gènes associés a cette tolérance (Gamuyao et al., 2012 ; Mori et a l., 2016 ; Schatz et al., 2014). Toutefois, les mécanismes prouvant la tolérance sont encore flous (Nestler & Wissuwa et al., 2016 ; Wissuwa et al.,2020). La tolérance des génotypes varie en fonction du P acquis et du P utilisé par la plante pour faire de la biomasse (Wissuwa et al., 2015, 2020). Premièrement, il y a l'acquisition du P ou PAE qui est influencée par quatre facteurs :

- La longueur totale des racines, l'architecture racinaire, les poils racinaires, dont représentent les surfaces d'absorption racinaires. (Nestler et al., 2016)
- La quantité de P acquis par unité de surface racinaire et le poils racinaires (Wissuwa et al., 2020)
- La solubilisation du P par les racines, en produisant des solutions pour minéraliser le P dans le sol (Georges et al., 2002 ; Louw-Gaume et al., 2017)

- L'effet des microbes des rhizosphères et les mycorhizes. (Wissuwa et al., 2020 ;Rakotoson et al., 2020)

Pour la morphologie de la racine, le système racinaire du riz pluvial se classifie en racines couronnes (CR), racines séminales et en racines latérales qui comprennent : L-types et S-types (Yamauchi et al. 1987; Rebouillat et al. 2009). L'acquisition du P dans le sol est donc en majeur partie régie par l'architecture racinaire et leur grande exploration du sol pour chercher du P, au niveau des sols déficients (Marschner and Rengel, 2012). Deuxièmement, il y a l'utilisation du P ou PUE qui consiste à transformer efficacement le P acquis en biomasses, que ce soit en grain ou en paille (Vance et al., 2003 ; Manschadi et al., 2014). Le processus de remobilisation au niveau des feuilles matures est l'un des stratégies de la plante pour combattre la déficience en P (Abdallah et al., 2010). En effet, l'accumulation de P en sein des spécifiques tissus du riz, ainsi que la remobilisation de P au niveau des jeunes feuilles, des racines et de la tige représentent une alternative pour la plante de s'adapter à la limitation de P (Irfan et al., 2020). Il y aussi l'efficience racinaire ou RE qui mesure la quantité de P acquis par unité de surface racinaire (Wissuwa et al., 2020 ; Mori et al., 2016). Une variété avec une RE élevée est considéré comme une variété tolérante a la déficience en P (Wissuwa et al., 2005 ; Wissuwa et al., 2020). La variété DJ123, a été identifié en tant que variété avec une haute adaptation face à la déficience en P. DJ123 est capable d'avoir un rendement élevé, en ces conditions de sols appauvris en Afrique (Vandamme et al., 2016). Il a été suggéré que cette variété a une efficience racinaire élevé, ainsi qu'une haute capacite a acquérir du P en sol déficient, grâce à son surface racinaire très élevé (Mori et al., 2016, Wissuwa et al., 2020). Par contre, la variété de riz pluvial Nerica4, est une variété populaire en ASS due à sa tolérance a la sècheresse et au *striga*, ainsi que son haut rendement en condition fertilisé. Toutefois, au niveau des sols infertiles, notamment déficients en P, elle a une faible performance (Atakora et al. 2015; Vandamme et al.2016). De ce fait, l'objet de cette étude consiste à identifier les caractères d'ordres physiologiques et morphologiques liés à la tolérance de ce stress abiotique au niveau des lignées NDJ, qui étaient issues du croisement entre les deux variétés DJ123 et N4.

3.2 Matériels el méthodes

3.2.1 Expérimentations

Trois expérimentations, notées 1,2,3, ont été réalisés au Japon.

- **Expérimentation 1 : Expérimentation en bouteille (PUE)**

L'expérimentation 1, une expérimentation en serre, a été effectué au Japon, au niveau de la station de recherche de JIRCAS, situe dans la ville de Tsukuba (Coordonnées géographiques). Les semences de DJ123,

N4, V2 et V6 ont été prégermées le 18 Juin 2022, puis semés le 21 Juin,pour ensuite les transférer dans des bouteilles noires de 1.1L, remplis de solution nutritive, Yoshida, dix jours après semis. L'expérimentation consistait à mettre une plante par bouteille, avec cinq répétitions par variétés. La solution nutritive, omettant le P, a été renouvelé tous les cinq jours. Pour l'expérimentation, 2µM de P a été additionné à la solution nutritive. Au total, 400 µM a été apporté aux plantes, jusqu'à la récolte. La récolte a été effectuée 40 Jours après germination. Quatre plantes par variété ont été récoltés, puis le nombre de CR, la longueur de la racine, la biomasse ont été collectes. Pour cette dernière, les pailles ont été mises dans l'étude a 65℃ durant trois jours, puis le poids sec de la racine et de la paille ont été collectées.

- **Expérimentation 2 : Expérimentation en pot au Japon (V_80)**

Comme l'expérimentation 1, l'expérimentation 2 a été conduit au Japon suivant le même protocole et la même date de prégermination et de semis, sauf qu'après germination, le semis a été effectué directement dans des pots en plastique de 80L, remplis de sol. Le sol vient de la station d'expérimentation de JIRCAS, un sol qui n'a jamais été fertilisé d'au moins quinze ans, avec une forte capacité de fixation de P. Le pH est de 5.8, et le taux de P dans le sol est faible, 5mg.KG^{-1} (Bray II). Aucune fertilisation n'a été fait lors de l'essai et l'arrosage a été effectué tous les deux jours. Les variétés DJ123, N4, V2 et V6 ont été randomisées avec cinq plantes de trois répétitions chacune, et un espacement de 5cm entre des plantes. Le premier échantillonnage, noté T0 a été fait dix jours après germination (10DAS). Pour la collecte de données, quatre plantes par répétition par variété ont été échantillonnées. Les mêmes traits ainsi que les mêmes données que celles de l'expérimentation 1 ont été collectées sauf que, l'analyse de P dans les racines et les feuilles ont été faits, ainsi que le scanner des racines. Ensuite, le deuxième échantillonnage, noté T1, a été effectué 28 jours après le semis (28DAS) , collectant les mêmes données que celui de T0. Enfin, le troisième échantillonnage, noté T2 a été effectué 37 jours après le semis.

- **Expérimentation 3 : au champ au Japon**

L'expérimentation au 3 a été conduit au champ, a *Hachimantai*, un terrain expérimental de JIRCAS, Tsukuba, Japon. Le sol est de type andosol, avec un PH de 5.8 ayant une forte capacité de fixation de P (Même sol que l'expérimentation 1). Les semences prégermées de DJ123, N4, V2 et V6 ont été semées le 22 Juillet 2022. Le dispositif expérimental est une randomisation complète par block, avec trois blocks et donc un block représente une répétition. Deux échantillonnages ont été fait, lors de l'expérimentation, dont T0 : dix-neuf jours après semis et T1 : Trente et un jours après semis. Les données collectées étaient les mêmes que celui de l'expérimentation 1, pour T0 et T1.

3.2.2 Analyse de P dans la plante

La concentration de P au niveau des feuilles et des racines des variétés DJ123, N4, V2 et V6, issues de l'expérimentation 2 et 3 a été mesure par la méthode de digestion par acide. La digestion de la matière sèche des plantes a été fait dans 6ml d'acide 3 :1 HNO3/HClO4. En effet, les échantillons ont été digérés à l'aide d'un digesteur a une température de 105℃ pendant 90 minutes, 140℃ pendant 90 minutes, ensuite 170℃ pendant 20 min. Après la digestion, 50Ml d'eau ionisée. La concentration en P de la solution a été analysée via la machine « Microplate Reader » en utilisant le bleu de molybdène (Murphy&Riley., 1962).

3.2.3 Scannage des racines

Les racines étaient étalées dans un plateau en plexiglas (20 × 25 cm) rempli à 1 cm d'eau pour l'acquisition d'images avec un Scanner photo à double objectif Epson Perfection V700 avec éclairage supérieur (réglages du scanner : 600 ppp, niveaux de gris 8 bits, positif film). Les images ont ensuite été analysées par le logiciel WinRhizo (Version 2008a, Regent Instruments Inc.) pour estimer la surface racinaire (RSA) avec la 'Classification des pixels' réglé manuellement avec une d'échelle de gris de valeur 225, ce qui a amélioré la détection des racines très fines. Les systèmes racinaires ont été séparés dans les classes de diamètre suivantes : 0– 90 nm, 90–30 nm, 30–60 nm, 60-130 nm, 130-180 nm (suppl. Fig. S1). Approximativement, elles correspondent aux racines latérales de type S (<90 nm), aux racines latérales de type L (90–250 nm) et aux CR (250–1000 nm). Dans les mesures ou les racines étaient très volumineuses, elles étaient séparées en plusieurs échantillons, puis analysées séparément, ensuite, les images ont été additionnés.

3.2.4 Analyse statistique

Les données ont été analysées à travers le logiciel statistix (Version 10). L'ANOVA a deux facteurs a été analyse, facteur 1 : Génotype, facteur 2 : Traitement, avec un test de Tukey HSD, a un seuil de significativité de $P<0.05$.

3.3 Résultats

4.3.1 Evolution de la biomasse et teneur en P

L'évolution de la biomasse aérienne ou poids sec de la paille (SW) de DJ123, N4, V2 et V6 est en corrélation positive avec la teneur en P (Pc). SW et Pc varient significativement en fonction de la variété (les génotypes), en condition de faible fertilité de sol, notamment en P. Selon l'EC (Expérimentation au

champ), SW et Pc sont en évolution croissante, suivant 4 dates de prélèvements, allant de 18DAS au 65DAS (Fig.17). De même pour L'EP (Expérimentation en pot), SW et Pc croissent parallèlement, de 10DAS à 37 DAS (Fig.18). Ces deux expérimentations démontrent la performance des variétés DJ, V2 et V6 par rapport à N4 en termes de SW et Pc.

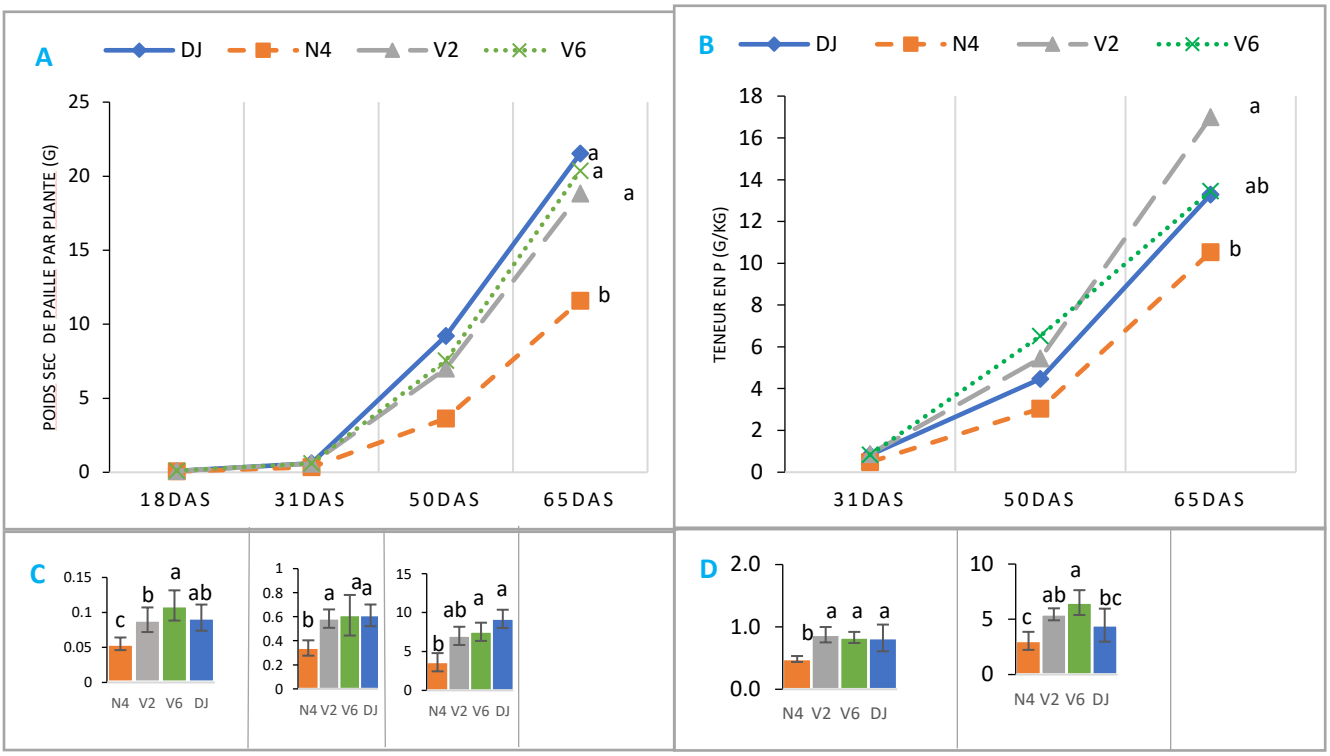


Figure 17: Evolution du poids sec et de la teneur en P de la paille par plante des 4 variétés, N4, V2, V6 et DJ123 suivant le nombre de jours après semis (DAS), **expérimentation au champ**. (A) : Poids sec de la paille par plante (en grammes), suivant quatre dates de prélèvement. (B) : teneur en P des pailles suivant trois dates d'échantillonnage. (C) : Comparaison des valeurs de poids sec de paille entre les quatre variétés, pour chaque date de prélèvement, en utilisant l'analyse statistique ANOVA suivi d'une comparaison multiple, test de Tukey (alpha=0.05). (C) : Comparaison du teneur en P des pailles entre les quatre variétés, pour chaque date de prélèvement, en utilisant l'analyse statistique ANOVA suivi d'une comparaison multiple, test de Tukey (alpha=0.05).

De 10DAS à 37 DAS, SW varie de 24.6 mg à 741mg, parallèlement, la teneur en P va de 62.9mg/kg à 658.4 mg/kg (**Fig.18A**). Pour l'EC, en 31 DAS, SW varie significativement en fonction des variétés, dont les valeurs vont de 340mg (N4) a 612mg (V6). Pour l'EC, en 28 DAS (3jours de moins), SW varie de 186mg (N4) à 376mg (V6). Les valeurs de SW issues de EC sont beaucoup plus élevées que celles issues de EP. Toutefois, des ceux expérimentations démontrent que V6 est la plus performante et N4 est la moins performante, pour les deux traits. En effet, Dès 10 DAS, considéré comme T0, N4 a la plus faible SW (19.9mg), et Pc (55mg/kg), ces valeurs étant significativement différents de celles de V6 (SW=26.8mg, Pc=72.2mg/kg) (**Fig.18D**).

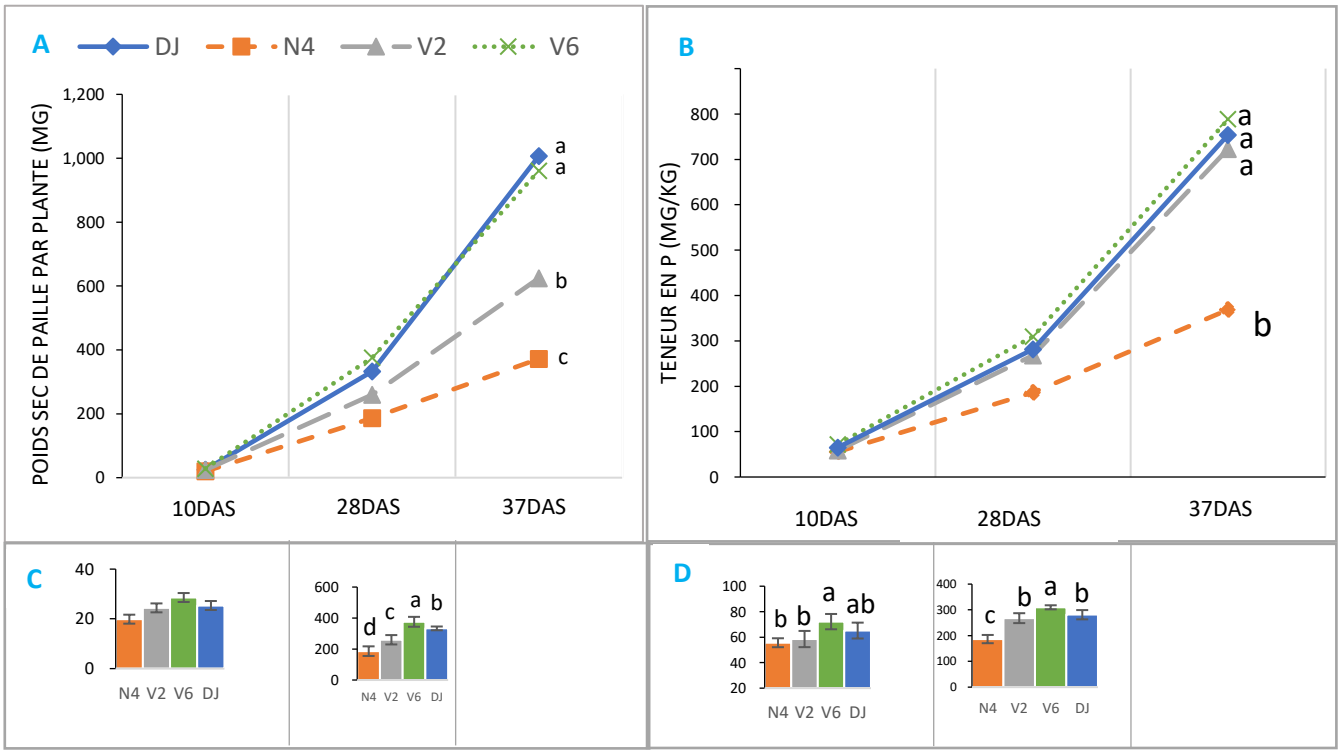


Figure 18 : Evolution du poids sec et de la teneur en P de la paille par plante des 4 variétés, N4, V2, V6 et DJ123 suivant le nombre de jours après semis (DAS), **expérimentation en pot**. (A) : Poids sec de la paille par plante (en grammes), suivant trois dates de prélèvement. (B) : teneur en P des pailles suivant trois dates d'échantillonnage. (C) : Comparaison des valeurs de poids sec de paille entre les quatre variétés, pour chaque date de prélèvement, en utilisant l'analyse statistique ANOVA suivi d'une comparaison multiple, test de Tukey (alpha=0.05). (C) : Comparaison du teneur en P des pailles entre les quatre variétés, pour chaque date de prélèvement, en utilisant l'analyse statistique ANOVA suivi d'une comparaison multiple, test de Tukey (alpha=0.05).

En l'espace de dix-sept jours, les valeurs de SW et Pc de V6 et DJ sont deux fois plus élevés que celui de N4. Néanmoins pour l'EC, le long du cycle, DJ, V2 et V6 diffèrent significativement de N4, pour les deux traits, sauf pour le cas de V2 en T2. Jusqu'en 31DAS, V6 est la plus performante, mais à partir de 40 DAS, DJ se rattrape avec une différence non-significative (**Fig.17A**). L'EP, confirme aussi que SW de DJ, devient plus élevé que celui de V6 à partir de 34DAS (**Fig18.B**). Par ailleurs, le SW de V2 en 50DAS ne diffère pas significativement de N4 (**Fig.17.C**), alors qu'elle a un gain significatif de 78.7% en termes de Pc par rapport à N4 (Fig.17.D). De plus, la teneur en P au niveau de la racine de V2 est significativement plus importante de celle des trois autres variétés (Cf. Annexe 5). En 65 DAS, Pc au niveau de V2 grimpe significativement, surpassant ainsi V6 et DJ, ainsi que N4. De 50DAS à 65 DAS, en termes de Pc on observe une augmentation de 340% pour V2, contre 210% pour N4, 269% pour V6 et 266% pour DJ123 **(Fig.17B**).

4.3.2 Traits racinaires reliés à la performance des variétés

La longueur totale de la racine ou TRL, les surfaces racinaires ou RSA, ainsi que le nombre total de racines ou Tips varient en fonction de la variété, en condition de faible disponibilité en P. Pour tous les traits, une nette différence s'observe entre DJ et N4, ainsi que V6 et N4. Dès 10DAS, DJ123 et V6 diffèrent significativement de N4 et de V2 en termes de TLR, de RSA et de RN (ou nombre de CR). De plus, V2 a la plus faible valeur de RSA et RN en T0, mais plus le nombre de DAS augmente, plus l'écart augmente entre V2 et N4, même si cet écart est non significatif. Par contre, à partir de 28DAS, la différence entre le RN de V2 et de N4 devient significative. En effet, de T0 a T1, V2 triple son nombre de racines couronnes, à la différence de V6 et N4, dont les valeurs de RN en T1 sont le double de celle de T0.

Tableau 5: Comparaison des traits racinaires entre les variétés selon la date d'échantillonnage et le type d'expérimentation. Selon l'analyse statistique ANOVA, la présence de * indique une différence significative entre les variétés, pour chaque trait, avec (*) : P<0.05, (**) : P<0.001, (***) : P<0.0001 ; tandis que ns indique une différence non-significative entre les variétés. Moy. est la valeur moyenne (n=6) de chaque trait, suivant la variété ; HSD indique le groupe des variétés d'après le test de Tukey (HSD). SD représente l'écart-type des moyennes.

		Expérimentation en pot											
	Variétés	**Longueur Racine (***)**			**Surface racinaire cm2 (**)**			**Nb. total de racines (**)**			**Nb. Racine couronne (***)**		
		Moy.	HSD	SD	Moy.	HSD	SD	Moy.	HSD	SD	Moy.	HSD	SD
10DAS	DJ	686	a	41	37.68	a	5.39	2416	ab	198	6.19	a	0.66
	N4	514	b	39	30.53	b	3.24	2016	ab	237	5.63	b	0.43
	V2	518	b	50	28.73	b	3.86	1977	b	253	4.75	b	0.47
	V6	655	a	45	36.43	a	3.75	2554	a	340	6.75	a	0.5
		(ns)			**(***)**			**(*)**			**(***)**		
28 DAS	DJ	4382	a	1302	313	a	59	13596	a	1785	15.7	a	2.1
	N4	2638	a	835	177	c	47	7122	c	1318	10.8	b	3.0
	V2	3161	a	348	223	bc	20	9500	bc	1630	13.8	a	2.1
	V6	4106	a	638	263	ab	19	12107	ab	1109	13.3	ab	2.3
		(***)			**(**)**			**(**)**			**(**)**		
37DAS	DJ	14941	a	2509	893	a	175	43599	a	13636	22.0	a	3.4
	N4	4851	b	2778	378	c	150	16990	b	5951	15.2	b	2.6
	V2	6639	b	1478	476	bc	120	18894	b	5869	20.5	a	2.9
	V6	13053	a	4785	802	ab	265	41606	a	19951	20.0	ab	3.7
		Expérimentation au champ											
31DAS	DJ	1782	a	881	132	a	67	1036.4	a	1036	26.6	a	3.8
	N4	720	a	194	61	a	15	1201.1	a	1201	13.5	c	2.7
	V2	1137	a	204	99	a	18	1662.2	a	1662	22.2	b	5.0
	V6	1441	a	748	106	a	40	1778.4	a	1778	19.6	b	2.9

Mais au fur et à mesure que le nombre de jours après le semis avance, les trois variétés s'écartent de N4. Le gain respectif en TRL, de V6 et DJ par rapport à N4, en 37 DAS est de 27% et 33% en T0 (10DAS), augmentant de 169% et 207% et T2(37DAS) (**Tab.5**). De T0 au T2, le TRL de V2 ne diffère pas

significativement de celui de N4, même si en T3, elle a un gain de 36%. Néanmoins, lors de l'EC, même si aucune différence significative n'a été observée entre les variétés, pour le trait TLR, N4 est 58% de moins que V2 en 31DAS. Le long du cycle, le donneur DJ, n'ayant pas de différence significative avec V6, à la RSA la plus élevée, que ce soit *in situ* ou *ex situ*. Les valeurs de RSA de DJ et V6 sont presque le triple de celui de N4 en 37DAS. Le TIPS, ainsi que le RN de V6 sont les plus élevées en T0 (TIPS= 26% plus élevées, par rapport à N4, RN= différence de 1 racine couronne), avec une différence significative avec N4. En somme, sur les 4 traits racinaires (TRL, RSA, TIPS, et RN), que ce soit en EC ou en EP, V2 et V6 sont plus performantes que N4, surtout V6 pour RSA, TLR et TIPS, et V2 pour RN, mais, ils ne dépassent significativement pas la performance de DJ, sauf que pour le TIPS de V6 lors de l'EC est de 71%(significatif) plus élevée de celui de DJ.

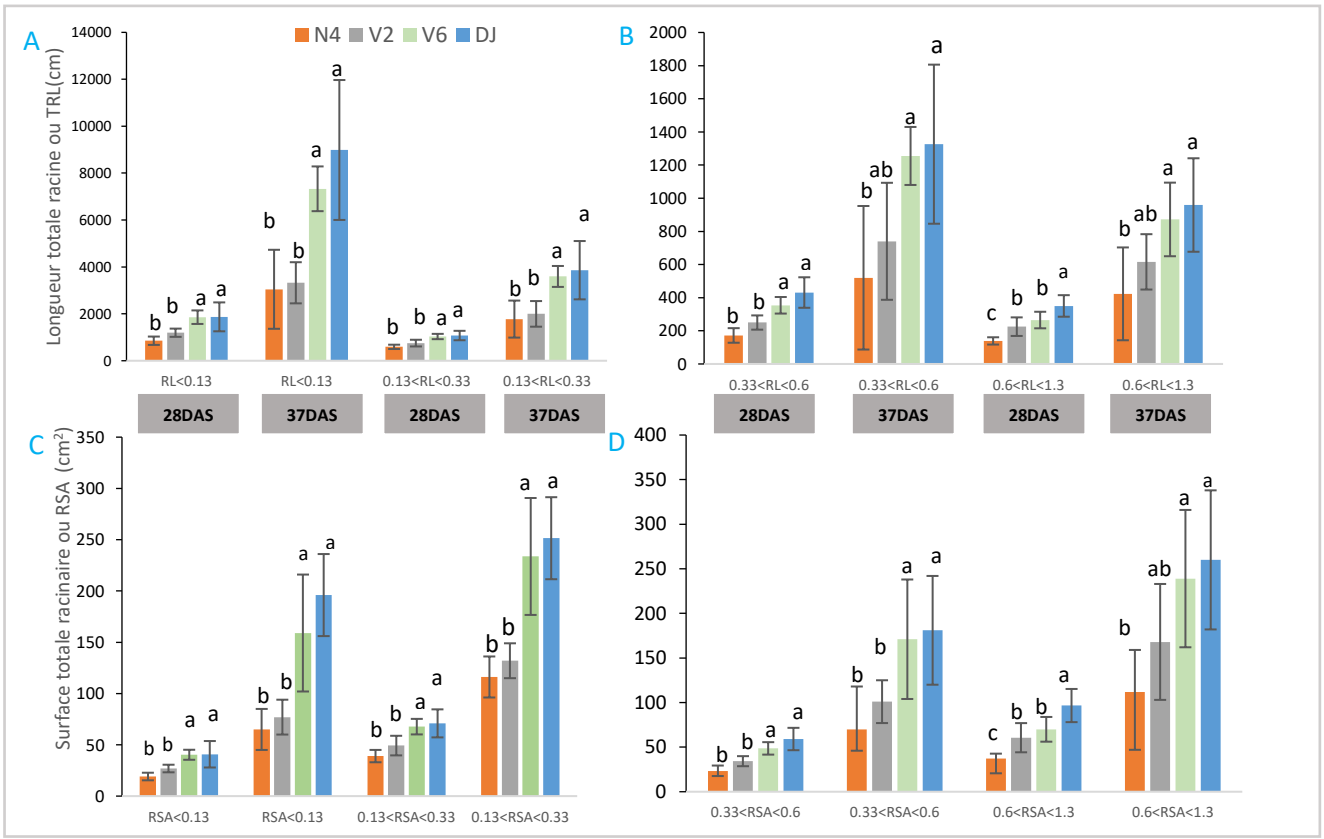


Figure 19: Répartition des traits racinaires des 4 variétés N4, V2, V6 et DJ123 selon la taille des racines. (A) Comparaison de la longueur totale de racine ou RL, selon les 2 premières classes regroupant la classe des racines fines, suivant deux dates de prélèvement, 28 et 37 jours après semis (DAS). (B) Comparaison de la longueur totale de racine ou RL, selon les 2 premières classes regroupant, suivant les racines couronnes deux dates de prélèvement, 28 et 37 jours après semis (DAS). (C) Comparaison de la surface totale racinaire ou RSA, selon les 2 premières classes regroupant la classe des racines fines, suivant deux dates de prélèvement, 28 et 37 jours après semis (DAS) (D) Comparaison de la surface totale racinaire ou

RSA, selon les 2 classes regroupant les racines couronnes (CR), suivant deux dates de prélèvement, 28 et 37 jours après semis (DAS). La comparaison des moyennes, ANOVA a été suivi par un test de comparaison multiple, Test de Tukey, avec un seuil de significativité alpha=0.05, donnant ainsi les groupes a et b.

En fractionnant les traits racinaires en classes, 4 classes, caractérisant les quatre variétés ont été obtenues. Ces classes ont été définies selon la taille (ou diamètre) des racines dont type-S sont inférieures ou égales à 0.13mm, les types-L ou les racines latérales sont entre 0.13 et 0.33mm, puis viennent les CR qui sont classifiées en 2, les CR ayant des ramifications secondaires se situent entre 0.33 et 0.6mm, et enfin les CR n'ayant points de ramifications, dont la taille est plus de 0.6mm (**Fig19**). Il existe une différence significative entre les variétés selon ces classes racinaires (n=4), suivant le nombre de jours après semis. En l'espace de 10 jours, les valeurs des traits racinaires (TRL et RSA) doublent voire triplent pour toutes les variétés. En moyenne, de T1 a T2, pour les deux traits TRL et RSA, les racines de type-S quadruplent de valeurs tandis que pour les trois autres classes, les valeurs en T2 représentent le triple de celles en T1. Mais en comparant les racines type-S des 4 variétés, DJ multiplie 4.8 fois le TRL de T1 a T2, tandis que c'est seulement 2.7 fois pour V2 et 3 fois plus N4 (**Fig19.A**).

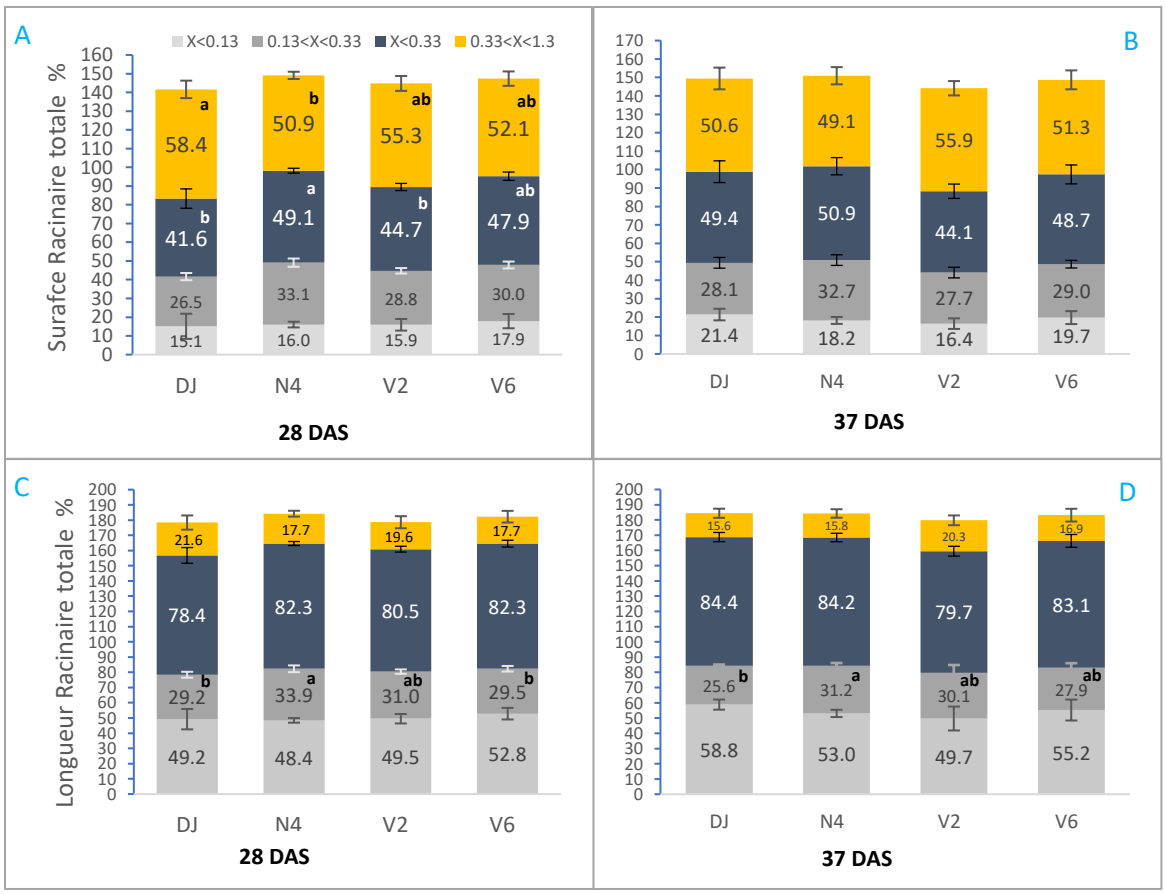


Figure 20: *Proportion des classes racinaires pour les variétés DJ, N4, V2 et V6 selon 28DAS et 37DAS. (A) Classification de la surface totale racinaire selon la proportion de quatre classes 28 jours après semis. (B) Classification de la surface totale racinaire selon la proportion de quatre classe 37 jours après semis. (C) Classification de la longueur totale racinaire selon la proportion de quatre classe 28 jours après semis. (D) Classification de la longueur totale racinaire selon la proportion de quatre classe 37 jours après semis. X représente le trait racinaire, soit RSA, soit RL. ANOVA, puis Tukey test (P<0.05), aboutissant aux groupes a et b.*

Sur les 4 classes, DJ et V6 ont des valeurs similaires, appartenant au même groupe d'homogénéité (a), différant significativement de V2 et N4 qui elles aussi ne diffèrent pas significativement entre elles. Les racines fines, regroupant les type-S et type-L (**Fig19A et Fig19C**) de DJ et V6 représentent le double de celles de V2 et de N4 en T2 (37DAS). Par contre, pour le cas des CR (0.6mm<Taille<1.3mm), il n'y a pas de différences significatives entre V2, V6 et DJ. Contrairement à DJ et V6, V2 est donc pauvre en racines fines tout comme N4, mais ont des valeurs considérables en CR. Le nombre total de racines (TIPS), en 28 et 37 DAS, DJ et V6 sont toujours différents significativement de N4 et V2, pour les racines de type-S, par contre pour TIPS> 0.13mm, V2, DJ et V6 sont similaires, et dont les valeurs sont différentes significativement de N4. En T1 et T2, avec RSA et RL>0.13mm, le TIPS de V2 représentent le double de N4 (Cf. Annexe 6). En outre, la proportion racinaire (%), est le pourcentage de racines par classes (quantité de racines par rapport à son surface/longueur/ nombre total). Selon la **figure 20**, La somme des racines fines et des CR donnent 100%. La proportion des racines fines est la combinaison de racines de type-S et des racines de type-L. Pour le RSA, la proportion des racines fines et CR sont à peu près égaux. Par ailleurs pour la TRL, les racines fines représentent 80 à 83% de la longueur totale dont les 60 à 65% de ces racines fines sont représentées par les racines de type-S. Pour la proportion en RSA et TRL, Il existe une différence significative entre les variétés, pour les racines de type-L, dont N4 a les valeurs les plus élevées, et sont différents significativement de DJ et V2. Par conséquent, cela induit une haute proportion de racines fines pour N4 par rapport aux trois autres variétés. Par ailleurs, DJ et V6 ont toujours valeurs les plus élevées, en termes de proportions pour les racines type-S , dont V6 en 28DAS et DJ en 37 DAS. V2 est performante en termes de proportion en CR, c'est-à-dire, taille >0.33mm, en 37 DAS.

4.3.1 Acquisition de P par les variétés et efficience racinaire

Il existe une différence significative entre les 4 variétés en termes de Pup et de RE en en T1 (Cf. Annexe 8). En 28DAS, les trois variétés DJ, V2 et V6 diffèrent significativement de N4 en termes de Pup, N4 ayant la valeur la plus faible. Il n'y a pas de différence significative entre le Pup de V6 et DJ, par ailleurs, en 28DAS (T1), Pup de V6 est plus élevée que celui de DJ. Par contre en 37 DAS, DJ a acquis 202 ng (nanogrammes) de plus que V6. D'ailleurs en 37 DAS, même si Pup de V2 et de V6 est deux fois plus élevé que celui de N4,

il n'y a pas de différence significative entre elles. Par ailleurs, en termes de RE, V2 est V6 sont les plus performantes, différant significativement de DJ et N4. En effet, suivant les deux temps d'échantillonnage, il n'y a pas de différences significatives entre RE de N4 et DJ, même si leur Pup se différent significativement (Cf. Annexe 8). Sur les 3 dates de prélèvements, (10DAS, 28DAS et 37DAS), les courbes de tendances des 4 variétés évoluent de façon exponentielle, pour les traits Pc (racines + paille) et la RSA (Cf. Annexe 7). Les équations obtenues à partir des courbes de tendances par variétés (Cf. Annexe 7), ont permis de déterminer la RSA par jour, ainsi que la quantité de P acquis ou Pup par la plante par jour. Pup en J-11 est la différence entre le Pc en J-11 et J-10, mais non pas le cumul du P acquis jusqu'en J-11.

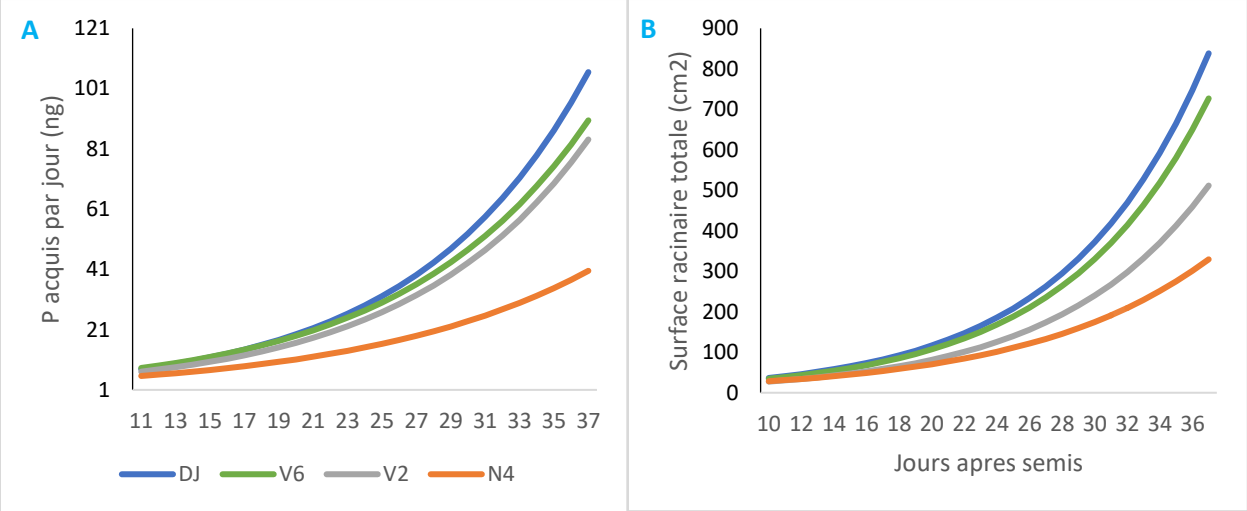


Figure 21: Evolution de l'acquisition de P et de la RSA par jour, des quatre variétés DJ, N4, V2 et V6.

L'évolution de Pup suivant le nombre de jour après semis est proportionnelle avec l'augmentation de la RSA, pour toutes les variétés (Fig.21). DJ est la plus performante en matière de Pup par jour et de RSA par jour tandis que N4 en est la moins performante. A partir de J-11, Pup est déjà variable selon la variété, dont N4 est déjà en dessous des 3 autres variétés (8.3ng pour V6 contre 5.4ng pour N4). Jusqu'au 15^{e} jour, l'allure de Pup est à peu près la même pour les 4 variétés. Toutefois, à partir de 17^{e} jour, les trois variétés, à savoir V2, V6 et DJ s'écartent progressivement de N4, c'est-à-dire que ces trois variétés ont commencé à acquérir une quantité plus importante de P, bien plus que N4 (**Fig.21A**). De même pour la RSA, DJ et V6 devancent N4 à partir du 16^{e} jour, par ailleurs, jusqu'au J-22, N4 et V2 ont un RSA presque identique, alors que leurs Pup en J-22 ont déjà une différence de 8ng (**Fig.21B**). De plus, V2 et V6 sont similaires en termes de P acquis, par ailleurs, leurs RSA ont une différence de 250cm^{2} en J-36. Pour V2 donc, le P acquis ne dépend pas forcement de la RSA du fait qu'avec un faible RSA, elle peut acquérir plus de P que les autres variétés. Cela induit une efficience racinaire ou RE très élevée de V2 par rapport aux autres variétés (**Fig.22**).

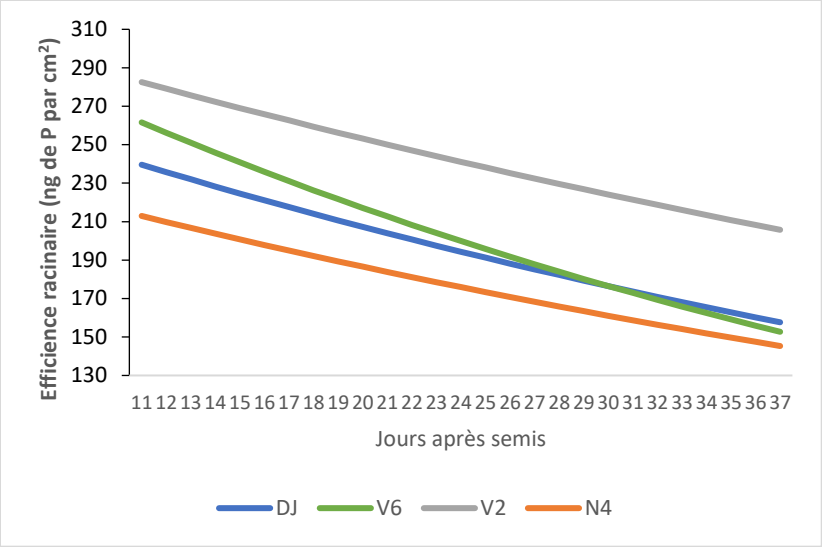


Figure 22:Efficience racinaire (RE) journalier des quatre variétés DJ, N4, V2 et V6. RE= Pup/RSA*100

Dès J-11 jusqu'à J-37, RE de V2 est élevée par rapport aux trois autres variétés. En effet pour V2, 1cm2 de RSA peut acquérir279ng de P, contre seulement 212ng de P pour N4 (gain de 31.6%). RE diminue au fur et à mesure que le nombre de jours après semis augmente mais l'écart entre V2 et N4 augmente, dont le gain de V2 par rapport à N4 en termes de RE en J-37 est de 41.3%). Par ailleurs, à partir de J-30, RE de DJ dépasse V6. DJ est très performant en termes de traits racinaires, ainsi que teneur en P, mais V2 est plus efficient.

4.3.2 Utilisation interne de P acquis

Les résultats dans de chapitre sont issus de l'expérimentation en bouteille de 1.1L, ayant pour objectif de mesurer le PUE, selon la formule PUE= 1/P concentration. PUE mesure l'utilisation interne du P acquis a travers sa transformation en biomasse.

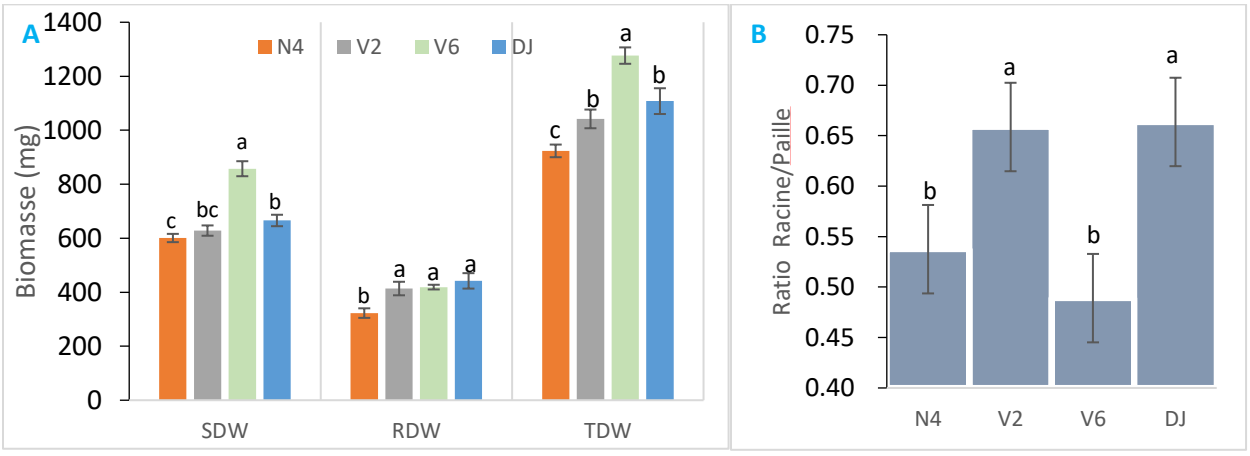


Figure 23: Comparaison des biomasses aériennes et racinaires, et ratio Racine/Paille des quatre variétés DJ, N4, V2 et V6. (A) : comparaison du poids sec de paille (SW), poids sec de la racine (RW) et du poids sec total (TW) entre les 4 variétés. Les barres ne partageant pas de lettre(s) identique(s) sont significativement différentes les unes des autres (test HSD, P ≤ 0,05).

Une différence significative s'observe entre les 4 variétés en termes de biomasse. Le poids total de la paille varie de 600mg (N4) a 857mg (V6), en 40DAS. Ces deux valeurs sont différents significativement entre elles, tandis que V2 et N4 ne sont pas différents significativement en termes de SW (**Fig.23A**). Par ailleurs, RW de DJ, V2 et V6 sont similaires (442mg, 413mg et 419mg), et sont différents significativement de celle de N4 (322mg). Pour une même quantité de P fournie (400ug), V6 produit plus de biomasse totale, avec un gain de 28% par rapport à N4. Néanmoins, tout comme N4, V6 a un faible ratio (RW/SW) ou RSR. En effet, le RSR de V6 et de N4 est significativement différent de celui DJ et V2, qui a un RSR deux fois plus élevée. (**Fig.23B**).

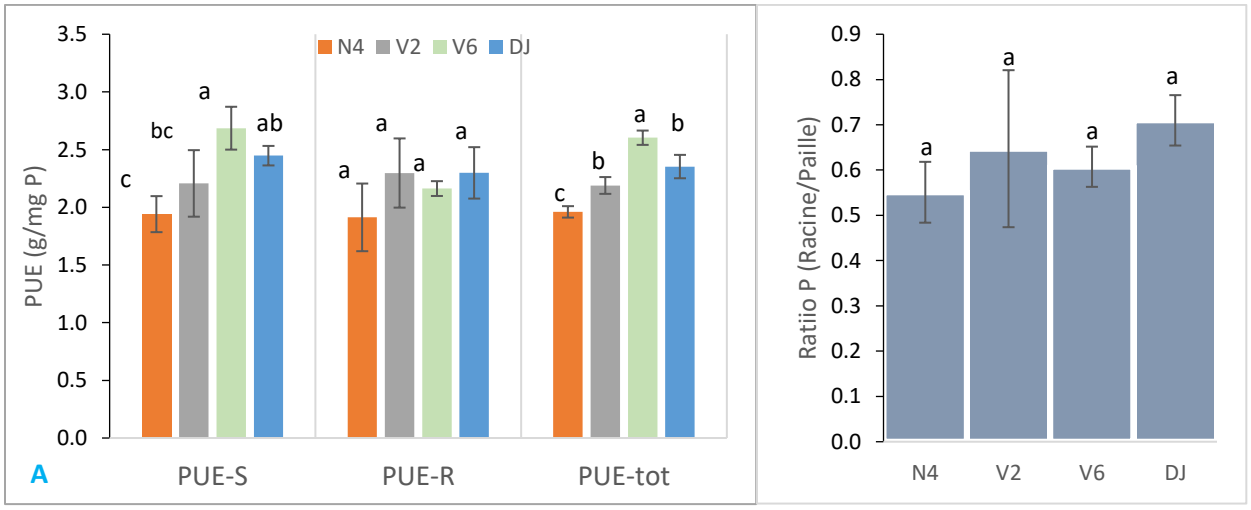


Figure 24: Evaluation de la PUE (Utilisation interne de P), au niveau de la racine (PUE-R), de la paille (PUE-S) et totale (PUE-tot). Les barres ne partageant pas de lettre(s) identique(s) sont significativement différentes les unes des autres (test HSD, P ≤ 0,05).

Le résultat sur le PUE, qui est la mesure de l'utilisation interne de P (PUE=1/Concentration en P[8] : indiquant la quantité de biomasse formée par mg de P appliquée) par la plante, démontre par ailleurs que les variétés dont la concentration en P est élevé ont un faible PUE. Ainsi, N4, ayant la concentration en P la plus élevée (Cf. Annexe 9), ont le plus faible PUE, que ce soit au niveau de la racine (1.91g/mg P contre 2.30/mg P pour DJ et V2), qu'au niveau de la paille (1.94g/mg P contre 2.69g/mg P pour V6) (**Fig.24A**). V6, a le PUE le plus élevé, en biomasse aérienne et PUE totale, différant significativement des trois autres variétés. Parallèlement, les résultats issus de la figure 23, démontrent aussi la supériorité de V6 en SW et

[8] Le résultat sur la concentration en P de l'expérimentation sur le PUE ne sont pas affiches dans la section résultat.

TW. Par ailleurs, aucune différence significative entre les variétés en termes de PUE-R (au niveau de la racine), malgré que le PUE-R de V2 et DJ est plus élevé que celui de N4 et de V6. Parallèlement, il n'y a pas de différences significatives entre le ratio P-racine/P-paille, qui indique l'allocation de P depuis la racine vers les pailles, mais l'allocation est élevée pour V2 et DJ, démontrant ainsi une quantité importante de P au niveau de la racine pour ces deux variétés. (**Fig24.B**).

3.4 Discussions

Face à la déficience en P, chaque variété a sa propre stratégie d'adaptation. Les expérimentations au champ, ainsi qu'en pot ont montré des variations entre les variétés pour les traits considérés, comme indicateurs de performance, à savoir, SW, DWR, TW, Pc, les types et classes des racines, TRL, RSA, Tips et l'efficience racinaire. Il a été confirmé que la variété africaine N4 a été moins performante, avec des différences significatives, que les autres variétés.

Réponses physiologiques des variétés par rapport à la déficience en Phosphore

- **Biomasse**

Le P a été le facteur limitant lors des essais au champ et en pot. Les expérimentations duraient au maximum 40 jours en serre et 65 jours au champ. Depuis la germination jusqu'à la fin du stade végétative, des traits physiologiques relatifs à la déficience en P, caractérisaient chaque variété. Bien que le SW variait selon la variété, sa valeur élevée est expliquée soit par une meilleure acquisition de P (teneur en P suivant un intervalle de temps), soit par une meilleure utilisation du P acquis, soit par les deux mécanismes à la fois (Vance et al., 2003 ; Wang et.,2010). Dans les tissus du riz, les concentrations de P inférieures à 2,5 mg P g^{-1} sont considérées comme déficientes, tandis que celles supérieures à 5 mg P g^{-1} sont suffisantes pour une croissance normale (Reuter et al., 1997). Dans ce chapitre, la concentration de P au niveau des tissus variait de 0.37 mg P.g^{-1} à 0.52 mg P.g^{-1}, au niveau de la paille et 0.44 mg P.g^{-1} à 0.53 mg P.g^{-1} au niveau de la racine (Cf. Annexe 9) ; ces valeurs indiquent une déficience en P d'après l'auteur Reuter et al. SW et RW, croissaient parallèlement avec la teneur en P. C'est-à-dire que la production de matière sèche dépend fortement de la teneur en P de la plante, dont la quantité dépend par la suite de la capacité de la variété à acquérir suffisamment de P dans le sol ; En effet, V6 ayant des valeurs non différentes avec DJ, a eu la valeur la plus élevée en SW ainsi que la teneur en P jusqu'en 40DAS, tandis que N4 a eu 2 fois moins que SW de V6 et de DJ en 37DAS. Rakotoson et al., en 2020, a aussi trouvé un résultat similaire, confirmant qu'en milieu faible en P (6.6mg de P/kg de sol), la biomasse de DJ est deux fois plus élevée que celle de N4. Cette étude a donc confirmé que la biomasse était un trait important pour la mesure de l'efficience d'une variété en cas de déficience en P (Abbas et al., 2018 ; Rengel et al., 2005).

- **Acquisition et allocation de P**

V2 n'avait pas le SW le plus élevé mais elle avait un gain de 78.7% par rapport à N4 en termes de Pc au niveau de la paille. De plus, entre 50 et 65 DAS, on a observé une augmentation de Pc de 360% (contre 210% pour V6 et 269% pour DJ), pour V2. Il est donc fort possible que pour V2, l'augmentation brusque de Pc durant cette période est due soit à une forte acquisition de P à travers les racines, alloué ensuite vers les pailles pour la production de matière sèche soit par une meilleure utilisation du P acquis, soit par une remobilisation en utilisant des stocks de P. Malheureusement, il n'y a pas de données pour déterminer la teneur en P au niveau de la racine pour V2 durant ce stade, pour l'EC. Mais toutefois, selon l'EP, en 37DAS, il n'y a pas de différence significative entre la teneur en P au niveau des racines de N4 et de V2. Par ailleurs, l'essai sur le PUE a confirmé que même si N4 avait une forte concentration en P au niveau de la racine (Cf. Annexe 9), l'allocation de P vers la paille a été faible par rapport à V2. Cette dernière allouait efficacement P de la racine vers la partie aérienne. De plus, les résultats sur le RSR (**Fig.24B**) confirment aussi que V2 et DJ ont un RSR significativement élevés que V6 et N4. Cela pourrait être traduit par une limitation de développement de la biomasse aérienne au détriment du développement racinaire. En effet, Wissuwa et al. en 2005 et Aziz et al., 2011, et Niu et al., 2013, indiquent cette limitation (de la croissance de la partie aérienne) par une stratégie d'adaptation d'une variété face à la déficience en P dans le sol. Toutefois, le stade (nombre de jours après semis) de manifestation de cette stratégie pourrait varier d'une variété a une autre. Cela indique une remobilisation plus élevée de P des racines vers la partie aérienne, du fait que les racines représentent une grande source de P à remobiliser (Irfan et al., 2020). Par ailleurs, d'autres parties de la plante sont aussi des sources de P à remobiliser, telles que les jeunes feuilles et les tiges (Irfan et al., 2020). Une autre possibilité est la capacite V6, ayant une biomasse aérienne importante, à remobiliser P au niveau de ces sources. Néanmoins, à travers ces résultats, V6, DJ et V2 sont des variétés efficientes en P, comparées à N4, mais en termes de RSR et d'allocation de P, elles (V2, V6 et DJ) ont des stratégies différentes. Cependant, ces résultats confirment que, sur sols infertiles, la performance de N4 est relativement faible (Atakora et al. 2015 ; Vandamme et al., 2016), ce qui peut être attribué en partie à son incapacité à acquérir et allouer efficacement P du sol (Koide et al., 2013 ; Mori et al., 2016a).

Les traits racinaires, un facteur clé pour l'efficience en P des variétés

Une bonne croissance et développement des plantes, même en condition de limitation de P dans le sol est un indicateur de l'efficience d'une variété. Ces indicateurs sont liés à l'acquisition de P dans le sol. Comme la mobilité du P dans le sol est limitée, un développement et des changements dans la

morphologie des racines sont utiles pour une plus grande absorption de phosphore (Wissuwa et al., 2020 ?). La déficience en P affecte et modifie significativement l'architecture/structure racinaire (De Bauw et al., 2020). Sur les 4 traits racinaires (TRL, RSA, TIPS, et RN), traités dans ce chapitre, V2 et V6 étaient plus performantes que N4. V6 devançait significativement N4 en termes de RSA, TLR et TIPS, tandis que le RN de V2 était significativement plus élevé que celui de N4. Lors de l'EP, à part le RN, V2 et N4 n'avaient pas de différences significatives entre elles pour les trois autres traits. Par ailleurs, le RW de V2 (Cf. Annexe 5), était significativement plus élevée que N4. Les CR représentent donc une part importante du poids racinaire que les autres types de racines. L'abondance de RN, même en cas de déficience en P, est en effet un trait hérité provenant du parent DJ123, du fait que Wissuwa et al., en 2020 a conclu que l'efficience en P de DJ123 résidait en son nombre élevé en RN. Quatre classes ont été obtenues sur la typologie des racines, dont S-type<0.13mm ; L-type<0.33mm ; 0.4<CR1<0.67mm ; CR2>0.67mm. Cette classification ne correspond pas vraiment à ce que Mori et al., en 2016 (S-type < 0.15mm ; L-type< 0.4mm ; CR> 0.4mm) et Wissuwa et al. en ,2020 (S-type<0.9mm ; L-type<0.25mm ; 0.25mm<CR1 >0.4mm) ont trouvé. La cause de ces différences n'est pas encore très claire, mais les tailles ou diamètre racinaires peuvent varier d'un milieu ou traitement a un autre. Cependant, les résultats ont montré que même en termes de proportion de CR, celles de V2 ont été les plus élevées. On peut en déduire donc qu'une partie de son efficience en P réside dans son RN élevé. La quantité de racines fines (RSA, TRL et TIPS) de DJ et V6 est significativement plus élevée que celle de N4 et V2. Les racines fines regroupent les type-S, dont le diamètre est inferieur a 0.13mm et les type-L sont entre 0.13mm et 0.33mm. Les racines fines représentent 80 à 83% de la longueur totale de la racine dont les 60 à 65% de ces racines fines sont représentées par les racines de type-S. L'acquisition de P ou Pup dépendait principalement des différences de taille du système racinaire (Mori et al., 2016 ; Wissuwa et al.,2020), ou les racines fines jouent un très grand rôle dans l'acquisition de P grâce à leurs proportions élevées. Par ailleurs, chaque classe racinaire a leurs rôles respectifs dans l'acquisition du P, surtout en cas de déficience en P dans le sol. Les résultats ont montré que chaque variété a adopté des stratégies différentes, concernant la formation des racines face au manque en P. En effet, DJ et V6 avaient les mêmes stratégies, en maximisant la formation des racines fines, pour favoriser la production de biomasse plus significative que celle de N4. D'ailleurs, Des études ont montré que l'abondance des racines de type-S et type-L est un facteur clé de l'efficience d'une variété face à la déficience en P (De Bauw et al., 2020). Jusqu'en 28DAS, V6 était la plus performante dans tous les traits racinaires, premièrement grâce aux réserves de P au niveau de son grain (résultats non-publiés), qui assurent la vigueur de la plante après la germination (Pariasca-Tanaka et al., 2015 ; Rose et al., 2018) et à l'abondance significative en racines de type-S. Ces derniers ne contribuent qu'à l'acquisition de 15% du P

total acquis par la plante (Gonzalez et al., 2020) ; de plus, leurs formations sont nécessitent moins de P que les CR et pourront être efficaces en dépensant moins de P. En moyenne, de 28DAS à 37DAS, les racines de type-S quadruplent de valeurs tandis que pour les trois autres classes (type-L, CR1 et CR2), les valeurs en T2 représentent seulement le triple de celles en 28DAS (Tableau 5). Néanmoins, en raison de leur petite taille, elles sont facilement négligées dans les études, par conséquent, on sait peu de choses sur les différences génotypiques dans le développement de ces racines type-S, malgré leur contribution importante à la TRL du système racinaire du riz (Nestler et al. 2016). Par ailleurs, leurs abondances significatives ont conféré à V6 la production de biomasse plus élevée que les autres variétés.

Pour V2, les résultats ont montré que c'est la formation des CR qui a été favorisé au détriment des racines fines, limitant ainsi la production de biomasse aérienne au détriment de la formation de ces CR. En fait Gonzalez et al., en 2021, a stipulé que l'acquisition de P à travers les CR est très importante (représentant 65% de l'acquisition totale), par rapport aux racines de type-S ou de type-L, mais que leurs formations sont très couteuses en P (c'est-à-dire nécessite plus de P), surtout en condition de limitation de P. C'est l'une des raisons pour laquelle la formation des CR est limitée chez certaines variétés ce qui n'est pas le cas de V2. Cette stratégie, c'est-à-dire produire plus de CR plutôt que des racines fines, pourrait être efficace si le diamètre de la racine était réduit, ce qui réduirait le cout en P, mais cela reste toujours une hypothèse à vérifier. Toutefois, le donneur DJ avait à la fois plus de CR et de racines fines que V6 et V2. Surtout qu'en l'espace de 10 jours (28DAS a 37DAS) DJ multiplie le nombre de type-S deux fois plus que V2 (Fig19.A). Contrairement à DJ, N4 été la moins performante en termes de traits racinaires, mais sa proportion en racines de type-L a été significativement plus élevée que DJ (**Fig.20**). Si DJ et N4 avaient la même valeur de RSA, N4 pourrait être plus performante que DJ en termes d'acquisition de P, à cause de sa haute proportion en type-L. En effet, N4 a limité sa production de CR, ce qui aurait pu limiter son RSA. Mais avoir plus de type-L que les autres, sur un faible RSA n'est pas suffisant pour être efficiente en P, car les surfaces d'absorption sont restreintes par rapport aux autres variétés (Lynch et al., 2008 ; Wissuwa et al., 2005). Pourtant, même si V2 a eu des valeurs similaires que N4 en termes de RSA, V2 a été plus efficiente (en se référant à la production de biomasse), grâce à l'abondance des CR, une meilleure RSR et allocation de P depuis les racines vers la partie aérienne. Mais à part ces traits, une efficience racinaire aurait pu aussi expliquer cette performance.

Acquisition de P et efficience racinaire

A partir de J-11, des différences existent déjà entre les variétés en termes de Pup dont DJ a la valeur la plus élevée et N4 la valeur la plus faible (**Fig.21**). Proportionnellement, pour N4, la RSA en J-11, est la plus

faible, différant significativement de DJ. Les différences génotypiques ou variétales dans l'absorption du P, au niveau des sols déficients en P sont donc proportionnels aux différences dans la biomasse racinaire ou la surface (RSA) (Wissuwa et al., 2020, Gonzalez et al.,2021. En fait, l'absorption de phosphore commence aux premiers stades de développement du riz, et que la quantité de P absorbée sera limitée par la taille des racines et que les génotypes ayant un développement racinaire plus rapide devraient compléter plus rapidement les réserves de P des semences par absorption racinaire (Julia et al., 2018). En effet, la variation de Pup est expliquée par des différences de tailles de racines, dont RSA (Wissuwa, 2005). En plus d'un lent développement racinaire (**Fig.21B**), N4 a une faible quantité de P au niveau des grains, par rapport aux trois autres variétés. Ces deux raisons, induisent ainsi une faible acquisition de P par N4. En outre, Pup est aussi conditionné par la RE, qui est défini par la quantité de P acquis par unité de taille racinaire (ng/cm^2). RE est considéré comme une autre stratégie d'adaptation des variétés de riz face à la déficience en P. De nombreuses études ont confirmé que des différences génotypiques en RE, existent dans le riz (Kirk et al., 1999 ; Hoffland et al., 2006, Wissuwa et al., 2020). L'évolution RE est inversement proportionnelle avec le nombre de jours après semis (**Fig.22**). La quantité de racines augmente considérablement avec le temps, tandis que l'acquisition en P est peut-être lente, ce qui peut expliquer la diminution de RE. En effet, en 28DAS, une différence significative a été observée en termes de RE (Cf. Annexe 8). RE de V2 et V6 était significativement plus élevé que ceux DJ et N4. Ces dernières, n'avaient pas de différences significatives entre elles en 28 DAS, ce qui contredit les résultats de Wissuwa en 2020 affirmant que le RE de DJ est significativement plus élevé que celui de N4 en 28 DAS. Une raison pour cela est la différence entre la méthodologie utilisée. En fait, Wissuwa a réalisé des expérimentations au champ, alors que dans notre étude, RE a été obtenue à travers une expérimentation en pot, où les racines sont plus développées, et pourrait réduire le RE chez les variétés avec des RSA plus importantes. D'ailleurs, il a été confirmé dans cette étude que la quantité des racines (TRL, RSA et TIPS) lors de l'EP en 28DAS est deux fois plus importante qu'au niveau de l'EC (Tab.5). Par contre, en 37DAS, N4 a eu le plus faible RE tandis que RE de DJ est devenu proche de celui de V2 et de V6 car au fil du temps, DJ devient de plus en plus efficient en acquérant plus de P. Toutefois, considérant le RE journalier, V2 a eu la valeur la plus élevée des J-11 jusqu'en J-37, après le semis. L'utilisation de cette variété en tant que donneur a amélioré la RE de V2, car elle est l'un des meilleurs donneurs pour augmenter la RE d'une variété (Mori et al., 2016a). Par ailleurs, même si RE de V2 est très élevé, sa biomasse reste plus faible que celle DJ. D'où RE seul ne suffit pas. En effet, Wissuwa et al., en 2020 a conclu que la meilleure adaptation à la carence en P de DJ123 était due à la présence de mécanismes conduisant à un meilleur développement racinaire additionnée une plus grande RE.

3.5 Conclusions

La déficience en P est un problème majeur qui limite la production rizicole. De nombreuses études ont confirmé que les plantes, y compris le riz, s'adaptent à cette déficience à travers de diverses stratégies, caractérisant ainsi les variétés tolérantes. Les principales adaptations morphologiques se manifestent surtout au niveau des racines, tandis que des modifications internes surviennent aussi. En effet, les variétés efficientes en P, c'est-à-dire les variétés tolérantes produisent quand même des biomasses considérables, pour ensuite avoir un bon rendement. Les résultats de cette étude ont identifié des traits liés a l'efficience en P, en se basant sur la caractérisation physiologique des 4 variétés : DJ, V2, V6 et N4. En premier lieu, la production de biomasse était en fonction de traits racinaires tels que : la RSA, le TRL et les TIPS. En deuxième lieu, Les classes racinaires qui étaient les racines fines et les CR avaient aussi leurs rôles dans l'efficience des variétés, surtout dans l'acquisition de P. Enfin, il y a eu l'efficience racinaire ou RE. Ces traits favorisaient l'acquisition de P par les variétés. Des différences significatives ont été observées entre les variétés, pour tous ces traits, dont N4 a toujours eu la valeur la plus faible sauf pour la proportion racinaire en racines latérales. N4 était la moins performante en termes de SW, RW et TW que ce soit en EC ou EP. Toutefois, chaque variété avait leurs propres stratégies pour acquérir plus de P et ensuite l'utiliser pour la production de biomasse. Le nombre et la proportion de CR de V2 était très élevé, assurant ainsi une teneur en P plus élevé au niveau des biomasses. En fait, les CR assurent 65% de l'acquisition de P (Gonzalez et al.,2021). De plus, V2 avait un PUE significativement plus élevé par rapport à N4. Par ailleurs, V2 a une meilleure RSR (ratio racine/paille), limitant la production de biomasse aérienne au détriment du développement racinaire. Toutes ces caractéristiques physiologiques nous amènent à dire que V2 est une variété tolérante a la déficience en P, bien plus de N4. Pour V6, elle a eu la biomasse aérienne la plus élevée, ainsi que sa quantité de racines fines est très élevée. Ce qui est similaire à la stratégie de DJ. Par ailleurs, RW est assez faible par rapport aux autres variétés, mais son Pup est significativement importante que celui de N4. Son RE significativement plus élevé que DJ et N4 additionnée par une meilleure utilisation interne du P fait de V6 une variété tolérante a la déficience en P. La variété DJ a adopté toutes les stratégies, dont les traits RN, S-types, RSA, TRL, et PUE étaient significativement plus élevés que ceux de N4. Par contre, 28DAS, DJ a eu un faible RE, avec un développement important de racines au détriment de Pup. Mais en somme, DJ a conféré des traits de tolérance a V2 et a V6, rendant ces dernières plus efficientes par rapport à N4.

Chapitre 4 : QTL mapping for early root and shoot vigor of upland rice (Oryza sativa L.) under P deficient field conditions in Japan and Madagascar

This chapter is adapted from:

Ranaivo HN, Lam DT, Ueda Y,Pariasca Tanaka J, Takanashi H, Ramanankaja L, Razafimbelo T and Wissuwa M (2022) QTL mapping for early root and shoot vigor of upland rice (Oryza sativa L.) under P deficient field conditions in Japan and Madagascar.Front. Plant Sci. 13:1017419.doi: 10.3389/fpls.2022.1017419

4.1 Résumé de l'article

La production de riz pluvial est limitée par la faible disponibilité en phosphore (P), au niveau de nombreux sols tropicaux qui sont fortement altérés. La carence en P du sol, est susceptible de devenir de plus en plus limitante dans les futurs climats plus secs car la mobilité du phosphore diminue fortement avec l'humidité du sol. Un bon développement des racines des plantules sera crucial pour faire face aux effets combinés d'une faible disponibilité en phosphore et en eau. DJ123, une variété issue de Bangladesh a été utilisé comme donneur. C'est une variété efficiente en P. Elle a des racines développées et une vigueur racinaire très élevée, même en cas de déficience en P dans le sol, lui assurant ainsi une meilleure acquisition de P. DJ123 a été croisée avec la variété inefficiente en P, Nerica4, mais dotée d'une bonne qualité de grains. Le rétrocroisement ou back-cross de la lignée NDJ188-1-1-1-1, avec le parent récurrent Nerica4, a permis d'obtenir 201 lignées. Ces dernières ont été génotypées en utilisant 222 SNP marqueurs, (Le génotypage est la technologie qui détecte les petites différences génétiques qui peuvent entraîner des changements majeurs dans le phénotype, c'est une méthode qui détermine les différences dans le complément génétique en comparant une séquence d'ADN à celle d'un autre échantillon ou d'une séquence de référence. Il identifie de petites variations dans la séquence génétique au sein des populations, telles que les polymorphismes mono-nucléotidiques (SNP)), en BC1F2 et phénotypées (Mesure des traits agronomiques) dans la génération BC1F3, au Japon. La confirmation du QTL détecté a été faite au sein de la génération F5, et les expérimentations ont été conduites au Japon et à Madagascar. Quatre traits ont été mesurés lors des essais, dont RN ou le nombre de CR, SW ou le poids sec de la paille, RW ou le poids sec de la racine, et TW ou le poids sec total, en 40 DAS pour les lignées en BC1F3, et 40 et 70 DAS pour les lignées BC1F5. Une large variation a été observée au niveau des lignées en 40 DAS dont pour tous les traits. Dix QTL ont été détectés pour le RN, SW, RW et TW au niveau d'un champ fortement déficient en phosphore (5 mg P kg^{-1} de sol, Bray-II).au Japon (36°05'N, 140°08'E; altitude, 50 m au-dessus de la mer) au sein de la génération BC1F3.

Au sein des lignées issues de la génération F3, 10 QTL ont été identifiés dont :

- Un QTL affectant les traits d'efficience en P RN, RW et TW a été détecté sur le chromosome 9 (qPef9 – pour l'efficacité P) dans le même intervalle, tandis que deux QTL se chevauchaient pour SW et TW sur les chromosomes 1 (qPef1) et 6 (qPef6) ;
- Deux QTL ont été détectés pour la RN ; qRNO8 et qPef9, expliquant ensemble 23,4 % de la variation pour RN parmi les 201 lignées ;

- Un locus mineur a été détecté pour RW sur le chromosome 2 (qPef2) et ce locus était le seul pour lequel Nerica4 a contribué à l'allèle positif ;
- La variation du SW a été attribuée à trois QTL putatifs sur les chromosomes 1 (qPef1), 6 (qPef6) et 9 (qPef9-2), expliquant ensemble 46,8% de la variation de ce trait.
- Sur les trois QTL putatifs détectés pour TW, deux coïncidaient avec QTL pour SW (qPef1) et (qPef6) et un avec un QTL pour RW et RN (qPef9).

Parmi ceux-ci, qPef9 sur le chromosome 9 a affecté plusieurs traits, augmentant le nombre de racines, le poids des racines et la biomasse totale, tandis que le QTL voisin sur le chromosome 9 (qPef9-2) a augmenté la biomasse aérienne. Dans le but de confirmer ces QTLs identifiés, les lignées BC1F5 ont été semées à Madagascar (19° 39'S 46° 30'E ; altitude 1016 m au-dessus de la mer) et au Japon. Les essais ont confirmé une région très influente sur le chromosome 9 (qPef9 et qPef9-2). Cependant, qPef9-2 semblait plus influent en 40DAS, que qPef9, car en termes de RW et SW, le gain qu'apportait l'allèle DJ123 par rapport à N4 à qPef9-2 était de +23,8% et +13,5% contre +19,2% et +14,4% à qPef9. Cet avantage provenant du QTL qPef9-2, a augmenté pendant le stade végétatif tardif (70DAS), avec une augmentation de 46 % de la biomasse aérienne (SW), même au niveau d'un sol déficient en P. Les résultats suggèrent une introgression entre 8,0 et 12,9 Mb sur le chromosome 9 de DJ123 pouvant ainsi améliorer les performances de la plante dans des conditions limitées par P. Les QTL identifiés ici ont une pertinence pratique car ils ont été confirmés dans le fond génétique cible de la variété locale Nerica4, qui était la plante receveuse et aussi le parent récurrent, et peuvent donc être appliqués directement pour améliorer ses performances.

4.2 Introduction

The growing global population necessitates continuous increases in crop production and this need is especially urgent for rice in Sub-Saharan Africa (SSA) where a second trend, the shifting consumer preferences away from traditional crops towards rice consumption, has caused local rice production to increasingly fall behind local rice demand (Nigatu et al. 2017). The total rice cultivation surface harvested in SSA was around 11.2 million hectares in 2016 (Nigatu et al., 2017) and that included an expansion of the upland rice area by more than 1 million ha in Africa (Saito et al. 2018). Upland rice in SSA is predominantly grown by subsistence farmers that either lack the financial resources to purchase off-farm inputs such as fertilizers or may decide not to apply fertilizers as a risk-avoidance strategy given that upland rice productivity fluctuates strongly with year-to-year variation in rainfall patterns (Saito et al. 2018). As a result, upland rice yields are typically far below those achieved in irrigated lowland rice (Saito et al. 2018; van Oort et al. 2015) and the vulnerability of upland rice production is expected to further increase with global climate change as rainfall patterns are expected to become more irregular (Wassmann et al. 2009; Heredia et al. 2021).

Upland rice is typically grown on the highly weathered soils of the humid tropics that strongly sorb P due to the abundance of iron and aluminum oxides in their clay fractions, rendering P largely unavailable to plant roots (Alewell et al. 2020). P deficiency is therefore considered to be the most important yield-limiting factor in upland rice production of SSA together with drought (Saito et al. 2018). P deficiency is likely to be increasingly limiting in future drier climates because P mobility decreases sharply with the decline of soil moisture (Marin et al. 2021). This would particularly affect seedling establishment and early crop development when roots are developing and soil exploration by roots is not sufficiently large to acquire the immobile P. To overcome P limitations during this early phase, one low-cost strategy would be to apply a micro-dose of P fertilizer together with seeds into the planting hole (Rakotoson et al. 2020), while exploring genotypic variation for early seedling vigor during P deficiency would represent a second option.

Genotypic differences in P uptake by rice plants do exist and are mainly caused by genotypic differences in root growth rates and to a lesser extent by differences in the quantity of P acquired per root size, or root efficiency (Mori et al. 2016; Wissuwa et al. 2020). It was furthermore shown that differences in P acquisition ability exist during the early seedling stages that are driven by rapid seedling root development (Pariasca-Tanaka et al. 2015). It would thus be beneficial to explore such traits leading to better crop establishment in rice breeding and this study attempts to do so for upland rice in Madagascar.

Nerica4 or N4 is a popular upland rice variety in Africa and Madagascar due to its good grain quality, good response to fertilizer, tolerance to drought stress and resistance to the parasitic weed striga (WARDA 2001). However, Nerica4 does not perform well on infertile soils in the absence of fertilizers (Atakora et al. 2015; Vandamme et al. 2016). This poor performance may be caused in part by its low capacity to acquire P from P-sorbing soils (Koide et al. 2013; Wissuwa et al. 2020). In contrast, the genebank accession DJ123 of Bangladeshi origin and belonging to the *aus* sub-species of rice was identified as being well-adapted to low-P African soils, especially if P deficiency coincided with water limitations (Vandamme et al. 2016). Subsequently it was shown that DJ123 has much faster seedling root development than Nerica4 and that it combines early root growth with superior root efficiency and internal P utilization efficiency (Wissuwa et al. 2020), making it a potential donor for these desired traits.

Quantitative trait loci (QTL) for performance under P deficient conditions had been identified earlier in rice (Ming et al. 2000, Wissuwa et al. 2002, Mu et al. 2003, Shimizu et al. 2004) and of these, only the large-effect QTL *Pup1* had been narrowed down to a single gene (*OsPSTOL1*; Gamuyao et al. 2012) and was subsequently utilized in marker-assisted selection to develop rice varieties with improved performance under P deficiency (Swamy et al. 2020). Many modern varieties developed for favorable lowland conditions completely lack the entire *Pup1* locus including *OsPSTOL1*, but both Nerica4 and DJ123 carry *OsPSTOL1* alleles (Pariasca-Tanaka et al. 2014, and unpublished data). To identify novel loci that further improve seedling vigor under P deficiency beyond the level conferred by *Pup1*, it may thus be desirable that both parents of the mapping population were carriers of *OsPSTOL1*.

The present study utilized a QTL mapping population derived from P efficient donor DJ123 and inefficient recurrent parent Nerica4 with the aim to identify novel loci controlling early vigor traits under P deficient conditions. We used a back-cross population to minimize potentially negative effects of exotic donor DJ123. Specifically, our objectives were to perform QTL mapping in a BC1F3 population on a highly P-sorbing soil in Japan in the absence of water limitations; and to confirm identified QTL in field trials in Madagascar and Japan using selected homozygous lines in the BC1F5 generation.

4.3 Materials and Methods

5.2.1 Plant material

An initial breeding population targeting P deficient upland environments in Madagascar had been developed from a cross of P efficient genebank accession DJ123 with P inefficient upland variety Nerica4. DJ123 belongs to the *aus* subpopulation of rice whereas Nerica4 had been developed from an interspecific cross between an *Oryza glaberrima* donor and recurrent parent Wab56-104 belonging to the *tropical*

japonica subpopulation of *Oryza sativa*. From the initial DJ123 x Nerica4 population, line NDJ188 was found to have good field performance in Madagascar and was back-crossed to Nerica4 to develop a BC1 QTL mapping population of 201 lines. These were genotyped in the BC1F2 and phenotyped in the derived BC1F3 generation. The confirmation of detected QTL was done in the BC1F5, which was developed by advancing one single selected BC1F3 plant to the F4, where another single selected plant was used as the founder of the BC1F5.

5.2.2 Phenotyping experiments

Parents (DJ123, Nerica4 and NDJ188) were characterized through nutrient solution and rhizobox experiments. Plants were grown with Yoshida nutrient solution (Yoshida et al. 1972) in which the standard P concentration of 320 µM P was reduced to 2 µM P to evaluate plant growth under P deficiency. The rhizobox experiment used the same low-P soil described for field experiment 1 below. The dimensions of the plexiglas rhizoboxes were 30 x 30 x 3 cm (height x width x depth for outer dimensions). Plants in both experiments were sampled at 35 days after sowing (DAS). The number of crown roots was counted (RN) and root dry weight (RW) and shoot dry weight (SW) determined after oven-drying samples at 65°C for 3 days. Total dry weight per plant (TW) was calculated from the sum of RW and SW.

Three field experiments were conducted in Japan and Madagascar over the 2020-2022 period. Experiment 1 evaluated the 201 BC1F3 lines at the experimental field station of JIRCAS in Tsukuba, Japan (36°05'N, 140°08'E; altitude 50 m above sea level) in an upland field plot that had not been fertilized with P for more than 15 years. The soil at the site is a volcanic ash soil (Humic Haplic Andosol) with a pH of 5.8 and very high P fixing capacity, leading to a very low level of plant available P (5 mg P kg^{-1} soil, Bray-II). Before sowing, basal NPK fertilizer was applied at the recommended rate of 50-0-50 kg/ha. Parents and 201 BC1F3 lines of the mapping population were sown in a randomized complete block design with four replications. Each entry was sown in double-rows with spacing of 15 cm between rows and 10 cm within rows. Five plants per plot were sampled 40 DAS. The evaluated traits were RN, RW, SW, and TW. Plants were dug out to a depth of 20 cm using a spade and soil was washed off with water. The number of crown root per plant was counted, then shoot and root were separated, dried in the oven for 3 days at 70°C and weighed. Total dry weight was obtained by adding RW and SW.

In experiments 2 and 3, BC1F5 lines were used to confirm the QTLs detected in the BC1F3 population. Experiment 2 was conducted at JIRCAS in Tsukuba in 2021 in a neighboring field with slightly higher P availability (7 mg P kg^{-1} soil, Bray-II). Fertilizer applications and plot layouts were as described above. The

experiment was sown on June 2nd with double-rows per entry and two replications. Sampling was done 40 DAS using same procedures as above. Experiment 3 was conducted in Ankazo, Madagascar, (19º 39'S 46º 30'E; altitude 1016 m above sea level). Fields in Ankazo were unfertilized following typical farmers practice in the region. The soil at the site is classified as Oxisol/Ferrasol, with a pH of 5.1 and a low level of plant available P of 6.63 mg P kg^{-1} soil (Olsen). Lines were sown in double-rows on February 8th 2022 and sampling of 5 plants per line was done 40 DAS and again 70 DAS following protocols described above.

5.2.3 Molecular marker detection through restriction site associated DNA sequencing (RAD-seq)

DNA was extracted from leaves by the standard phenol-chloroform method, and genotype data were obtained using restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) (Baird et al. 2008). The detailed methods and information for library construction for RAD-seq were described in Kobayashi et al. (2017). The resultant library was sequenced with the Hiseq-X instrument (Illumina). The quality of reads was analyzed by FastQC software (ver 0.11.9) (https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/). The raw sequence reads generated were trimmed for remaining adapters and low-quality regions using the trimmomatic software (ver 0.38) (Bolger et al. 2014) with the following settings: LEADING:3, TRAILING:3, SLIDINGWINDOW:4:15, MINLEN:100.

The remaining high quality sequences were aligned to an in-house genome assembly of parent DJ123 for the BC1F3 and to the publicly available genome assembly of a *tropical japonica* cultivar Azucena (NCBI BioProject PRJNA424001) for the BC1F5, using bwa software (ver 0.7.17) (Li and Durbin 2009). Aligned reads were ordered, indexed and converted to BAM format with samtools (ver 1.9) (Li et al. 2009). Variants were extracted using bcftools software (ver 1.9) (Li et al. 2009). The extracted single nucleotide polymorphisms (SNPs) markers were filtered by vcftools software (ver 0.1.16) (Danecek et al. 2011) using the following settings: --min-meanDP 10 --max-meanDP 50 --max-missing 0.95 --minQ 20 --min-alleles 2 --max-alleles 2 for the BC1F3 population. For BC1F5 population, --max-meanDP 100 option was used due to deeper sequencing depth. Monomorphic and indel markers were further removed. For the BC1F3 population, missing alleles were imputed by BEAGLE software (ver 5.1) (Pook et al. 2020). Further removal of monomorphic and indel markers resulted in a total of 1578 markers in the BC1F3 population, which was further manually reduced to 222 based on allele frequency, physical positions and likelihood of genotyping error calculated by the R/qtl software (http://www.rqtl.org; Broman et al. 2003). For the BC1F5 population, SNPs within 20 bp of detected indel sites were removed. To minimize spurious

heterozygous calls, heterozygous allele was defined only when >5 reads from each parent supported the genotype. Subsequently, missing alleles were imputed by the *k*-nearest neighbor imputation method using TASSEL 5 software (Bradbury et al. 2007; Money et al. 2015). Further removal of monomorphic and indel markers resulted in a total of 7398 genome-wide SNP markers in the BC1F5. These markers were reduced to 299 markers based on allele frequency and physical distance.

5.2.4 Genetic linkage map construction and QTL analysis

Above process retained 222 SNP markers for the BC1F3 and 299 SNP markers for the BC1F5. SNP calls were converted to the ABH-format, where "A', 'B' and 'H' denotes the donor DJ123 allele, recipient Nerica4 allele and heterozygote state, respectively. The genetic linkage map was constructed using R software package Rqtl and LinkageMapView (Broman et al. 2003; Ouellette et al. 2018). Markers were initially ordered based on their physical map positions but the final order was determined after applying the ripple function in Rqtl. Genetic distances were estimated in cM using the Kosambi option.

The software PLABQTL (http://www.uni-hohenheim.de/~ipspwww/soft.html; Utz and Melchinger 1996) was used for QTL mapping. Putative QTL were detected by Composite Interval Mapping, in which the most influential markers based on an F-to-enter of 8.0 were used as cofactors in the analysis. Detected QTL above an LOD of 3.5 were considered significant.

For the confirmation of detected QTL in the BC1F5, only lines homozygous at both flanking markers were selected. The effect of substituting Nerica4 (BB) alleles by DJ123 (AA) alleles was estimated based on mean phenotypic values of respective classes using Tukey's HSD test.

4.4 Results

5.3.1 Phenotypic variation

The comparison of parents used to develop the QTL mapping population in nutrient solution, rhizobox and field experiments under P deficient conditions showed that P efficient donor DJ123 had significantly higher biomass compared to recurrent parent Nerica4 and that parental line NDJ188 resembled DJ123 in most traits (**Fig. 25A**). Under field conditions the higher biomass was accompanied by a larger root system (**Fig. 25B**).

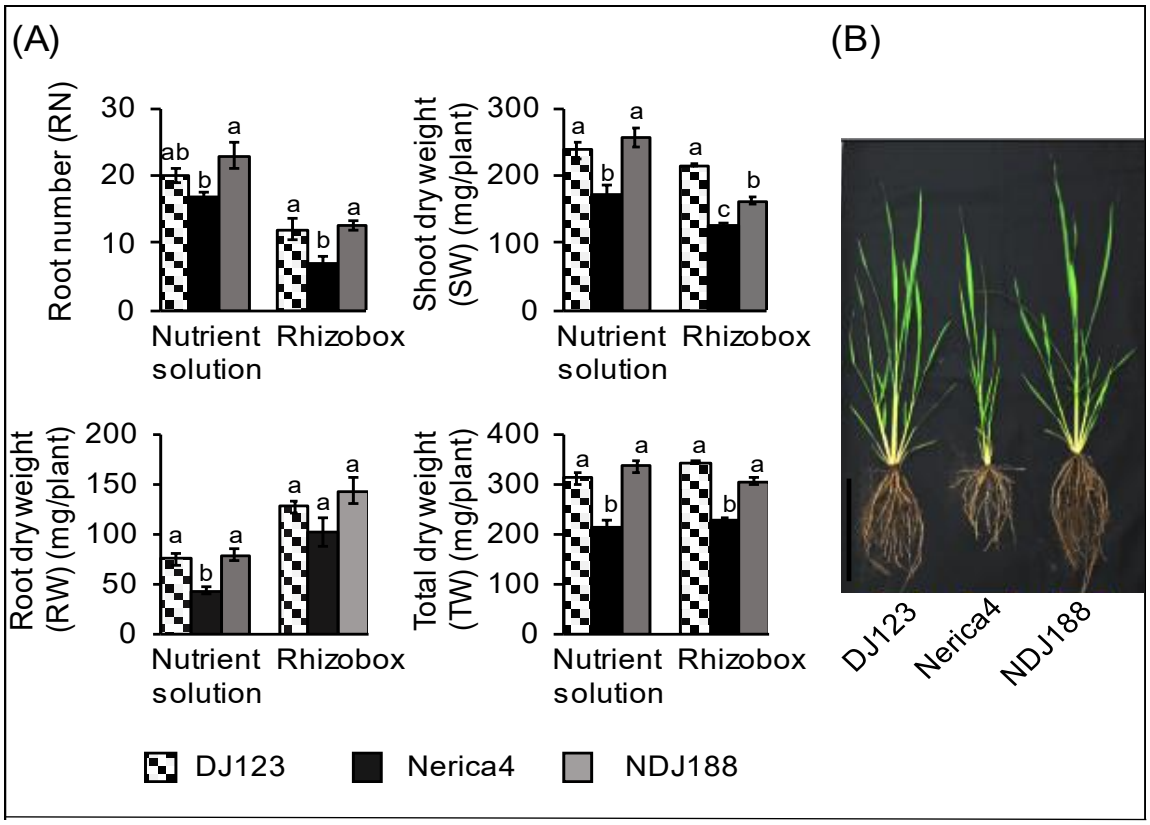


Figure 25: Phenotypic variation in parental genotypes DJ123, Nerica4, and NDJ188 grown under P deficient conditions. (A) Root number (RN), shoot dry weight (SW), root dry weight (RW) and total dry weight (TW) of plants grown for 35 d in low-P nutrient solution or in rhizoboxes filled with low-P field soil. Means and standard deviations are shown. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, Tukey's HSD test). (B) Representative plants grown for 60 d in a P deficient field at JIRCAS, Japan. Red scale bar indicates 20 cm.

In the field experiment conducted in Japan and providing the phenotypic data for QTL mapping or the 201 BC1F3 lines, large variation was observed for the traits measured at 40 DAS (**Fig. 26**). Root number varied by two-fold from 7 to 14 crown roots and root biomass varied from 100 mg to 300 mg per plant with 60 lines being superior to the two parents Nerica4 and NDJ188. Similar 3-fold variation was observed for shoot weight and total biomass weight. The distribution of the four traits (RN, RW, SW and TW) was close to a normal distribution. Nerica4 had below average values for all traits whereas DJ123 was among the best performers for biomass traits and NDJ188 for root number (**Fig. 26**). Correlations between biomass traits were high, ranging from $r = 0.75$ between root and shoot biomass to $r = 0.96$ for shoot and total biomass (**Cf. Annexe 12)**. Root number (RN) had moderate positive correlations of around $r = 0.5$ with biomass traits.

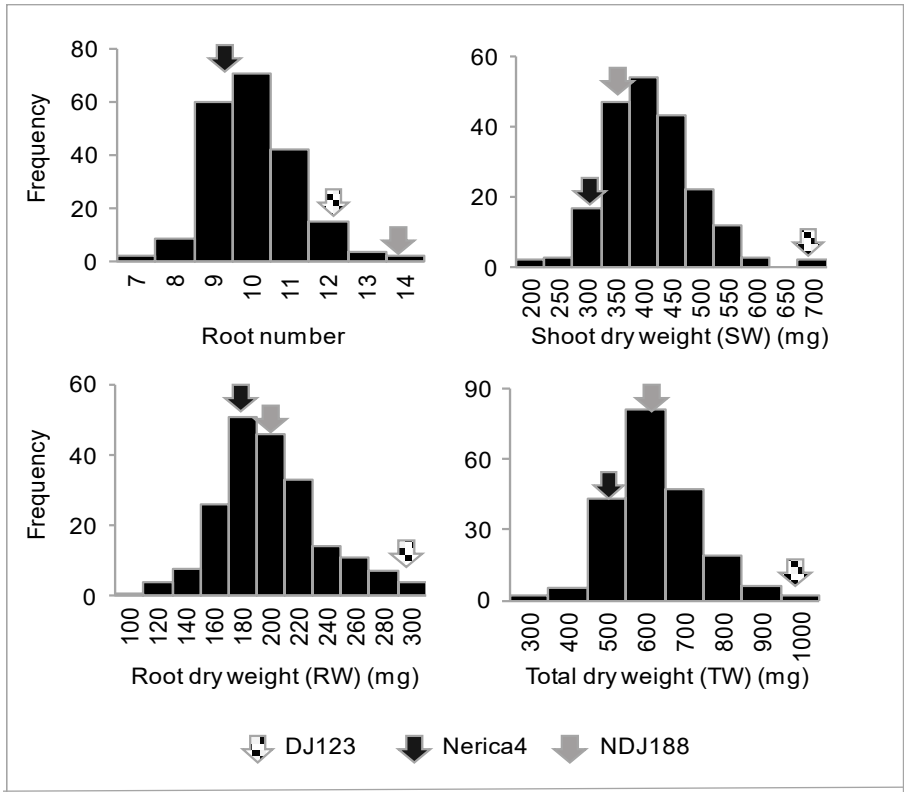


Figure 26: Frequency distribution of 201 BC1F3 lines for root number, shoot weight, root weight and total weight from a field experiment on low-P soil conducted at JIRCAS, Tsukuba, Japan in 2020. Arrows indicate the phenotypic values of parents (DJ123, Nerica4 and NDJ188).

5.3.2 QTL detection

A linkage map contained 222 SNP markers was generated for the BC1F3 mapping population, by aligning RAD-seq reads to the parental DJ123 reference sequence and subsequent reduction of very closely linked markers (**Cf. Annexe10**). Since this is a backcross population of Nerica4-derived NDJ188 to Nerica4, the linkage map is characterized by large non-recombinant blocks. This has resulted in very small recombinant regions on chromosomes 3, 4, 7, 11, and 12.

A total of 11 putative QTL were detected for the traits RN, SW, RW and TW and several traits mapped to the same locus, indicating that only 7 distinct putative QTL were identified. One QTL affecting the P efficiency traits RN, RW and TW was detected on chromosome 9 (*qPef9 – for P efficiency*) within the same interval (**Fig. 27, Tableau 6**), whereas two QTL overlapped for SW and TW on chromosomes 1 (*qPef1*) and 6 (*qPef6*). Three QTL were detected for RN on chromosomes 6 (*qRNO6*), 8 (*qRNO6*) and 9 (*qPef9*), jointly explaining 27.3% of the variation for RN among the 201 back-cross lines. Alleles increasing RN were from donor DJ123.

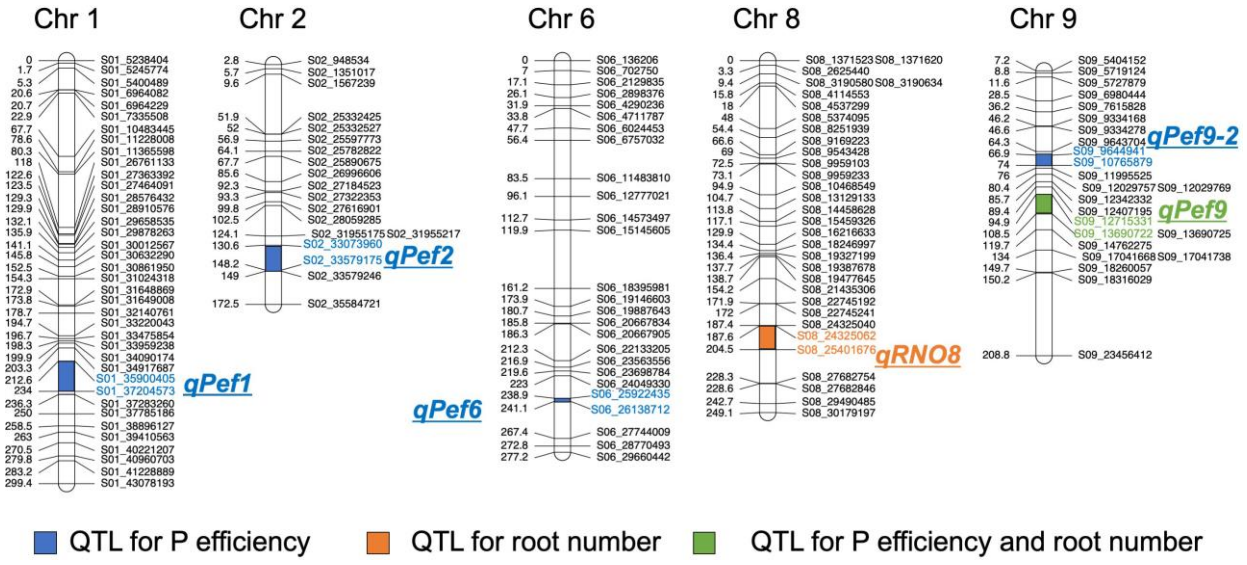


Figure 27: Chromosomal positions of the QTL detected in the BC1F3 population. Genetic distance and name for each marker are shown for chromosomes 1, 2, 6, 8, and 9.

In addition to *qPef9,* one minor locus was detected for RW on chromosome 2 (*qPef2*) and this locus was the only one for which Nerica4 contributed the positive allele (**Tableau 6**). Variation in SW was attributed to three putative QTL on chromosomes 1 (*qPef1*), 6 (*qPef6*) and 9 (*qPef9-2*), together explaining 46.8% of the variation for this trait. Of the three putative QTL detected for TW, two coincided with QTL for SW (*qPef1*) and (*qPef6*) and one with a QTL for RW and RN (*qPef9*) (**Fig. 27**).

Tableau 6: Putative QTL for root number and biomass traits based on phenotypic data generated for the BC1F3 population from a field experiment conducted on highly P deficient soil in Japan.

Trait	QTL name	Chromosome	Nearest marker[a]	Position[b] (cM)	Support interval[c]	LOD[d]	R^2 (%)[e]	Additive effect[f]	Positive allele[g]
Root Number	*qRNO6*	6	C6M7	62	46-74	3.59	7.9	-0.33	DJ
Root Number	*qRNO8*	8	C8M27	200	186-216	5.55	11.9	-0.36	DJ
Root Number	*qPef9*	9	C9M16	96	86-110	5.35	11.5	-0.37	DJ
Total							**27.3**		
Root Weight	*qPef2*	2	C2M16	136	126-148	4.46	9.7	1.24	N4
Root Weight	*qPef9*	9	C9M16	96	88-108	5.91	12.7	-1.23	DJ
Total							**22.4**		
Shoot weight	*qPef1*	1	C1M29	216	208-232	7.11	15	-3.37	DJ
Shoot weight	*qPef6*	6	C6M23	242	238-254	7.64	16.1	-3.6	DJ
Shoot weight	*qPef9-2*	9	C9M9	66	62-70	7.48	15.7	-2.65	DJ
Total							**46.8**		
Total Weight	*qPef1*	1	C1M29	218	208-232	6.48	13.8	-6.8	DJ
Total Weight	*qPef6*	6	C6M23	242	238-264	6.33	13.5	-4.07	DJ
Total Weight	*qPef9*	9	C9M16	94	88-102	9.3	19.2	-4.66	DJ
Total							**46.5**		

[a] Nearest marker from the peak of the QTL. Marker name indicates the chromosome and the relative position of the markers in the chromosome.

[b] Genetic position of the putative QTL in cM.

[c] Confidence interval of the location of the putative QTL in cM.

[d] Logarithm of the odds score of QTL detected using the threshold of LOD > 3.5.

[e] Percentage of the variation explained by the QTL.

[f] Additive effect: negative value indicates the genotype from the parent DJ123 toward increasing the trait value.

5.3.3 QTL interactions and effects in BC1F3

To what extent interactions between two detected QTL affected phenotypic values in the BC1F3 was explored in Supplementary Tables S2 – S4 where AA and BB stand for the DJ123 and Nerica4 allele, respectively. The interaction for root number QTL *qPef9* with *qRNO6* and *qRNO8* indicated the presence of small non-additive effects, since having DJ alleles at both loci increased root number more than expected from the single locus effects (**Cf. Annexe 13**). The interaction between root biomass QTL showed an opposite effect inasmuch having both negative alleles, Nerica4-derived BB at *qPef9* and DJ123 alleles AA at *qPef2*, reduced root biomass stronger (-31%) than expected from single allele changes that affected root biomass by only 6% or less (**Cf. Annexe 14**). Interactions for shoot and total biomass QTL involving *qPef1* were similar with a stronger negative effect in the combination of both negative alleles (-33% for shoot weight and -27% for total weight, relative to AAAA), compared to only about 7% reductions in the AABB or BBAA types (**Cf. Annexe 15**). The interaction between *qPef6* and chromosome 9 QTL followed the opposite pattern, with AAAA types having a larger advantage (+23 to +26%) over double-negative BBBB, than expected from a single allele change (+5 to +8% in AABB or BBAA).

Confirmation of QTL effects in Madagascar and Japan using derived BC1F5 lines

To genotypically characterize the BC1F5 lines derived from the original BC1F3 lines, a new set of 299 SNP markers was utilized from a new RAD-seq analysis. Their average segregation ratio was 44.3% DJ123 allele (AA), 39.5% Nerica4 alleles (BB) and 16.1% heterozygotes. Seven distinct QTLs had been identified in the initial BC1F3 experiment and to what extent their effects can be confirmed was examined in field experiments with BC1F5 lines selected for homozygosity using markers flanking the QTL position.

Tableau 7: Effect of the positive alleles at detected QTL on average phenotypic values of selected homozygote lines in the BC1F5 generation. Percent values indicate the difference between AA (DJ123) and BB (Nerica4) genotypic classes, using flanking markers of Fig. 3 to define QTL positions (corresponding markers in the BC1F5 are shown in **Annexe 16**). Traits highlighted in bold print are those for which a particular QTL had been identified in the BC1F3.

[a] Number of the homozygote lines for each allele, based on both flanking markers.

		Madagascar					Japan				
QTL	Allele	RN	RW	**SW**	**TW**	(n)[a]	RN	RW	**SW**	**TW**	(n)[a]
qPef1	AA	20.3	172	**655**	**812**	88	13.4	213.0	**218.8**	**431.8**	85
	BB	21.2	189	**647**	**838**	19	13.7	214.3	**219.5**	**433.8**	25
	%	**-4.3**	**-9.8**	**1.1**	**-3.2**		**-1.8**	**-0.6**	**-0.3**	**-0.5**	
qPef2	AA	20.5	**170**	631	796	55	14.0	**210.5**	218.4	428.9	51
	BB	20.1	**170**	654	790	53	13.0	**211.0**	218.8	429.9	53
	%	**1.9**	**0.0**	**-3.7**	**0.8**		**6.6**	**-0.3**	**-0.2**	**-0.2**	
qRNO6	AA	**20.3**	176	635	791	65	**13.9**	219	219	437	58
	BB	**20.7**	171	662	829	55	**13.2**	206	218	424	59
	%	**-1.8**	**2.8**	**-4.3**	**-4.8**		**5.2**	**5.5**	**0.5**	**3.0**	
qPef6	AA	20.7	177	**673**	**807**	59	13.8	214	**225**	**439**	52
	BB	20.2	162	**640**	**807**	43	13.0	209	**200**	**409**	48
	%	**2.8**	**8.3**	**5.0**	**0.0**		**5.6**	**2.1**	**11.1**	**6.7**	
qRNO8	AA	**20.1**	175	692	814	41	**13.9**	215	219	434	36
	BB	**20.5**	174	620	804	51	**13.2**	212	222	433	47
	%	**-2.0**	**0.6**	**10.4**	**1.2**		**4.6**	**1.4**	**-1.2**	**0.1**	
qPef9-2	AA	21.5	191	**727**	907	68	14.0	216	**225**	441	66
	BB	19.5	158	**533**	713	40	12.9	205	**214**	419	35
	%	**9.8**	**16.9**	**26.7**	**21.4**		**7.5**	**5.1**	**4.8**	**4.9**	
qPef9	AA	**21.0**	**181**	686	**859**	74	**14.1**	**217**	226	**442**	71
	BB	**19.8**	**169**	590	**779**	37	**12.8**	**209**	212	**421**	36
	%	**5.7**	**6.6**	**14.0**	**9.3**		**9.0**	**3.4**	**6.0**	**4.7**	

Locus *qPef9* had strong positive effects on TW, SW and RN in the initial experiment in Japan, and in both confirmatory experiments, the DJ123 allele improved performance, although effects were smaller than anticipated (**Tableau 7**). Interestingly the largest effect was observed for SW, for which a different QTL (*qPef9-2*) on chromosome 9 had been mapped in the BC1F3 (**Fig. 27**). This second QTL on chromosome 9 generally had very strong effects in Madagascar, increasing SW and TW by 26.7 and 21.4%, respectively, but also significantly increasing RW and RN (**Tableau 7)**. The other QTL that could be confirmed was *qPef6* that increased shoot and total weight in Japan but not in Madagascar. The remaining QTL *qPef1*, *qPef2*, *qRNO6* and *qRNO8* were not confirmed in the BC1F5 lines in either site.

The initial QTL mapping study identified two apparently distinct QTL on chromosome 9 controlling different traits. However, confirmatory trials in Madagascar placed this distinction in question as *qPef9* and *qPef9-2* affected traits similarly, but with stronger effects across all traits in Madagascar for *qPef9-2* compared to *qPef9*. The general similarity of effects of both chromosome 9 QTL with stronger effects in *qPef9-2* were confirmed by some additional plant sampling for SW during the late vegetative stage in Madagascar. Results are summarized in **Fig. 28**, showing highest SW being achieved by lines homozygous for DJ123 at *qPef9-2*, which outperformed their Nerica4 allele counterparts by 46% and parent Nerica4 by 64.8%. Lines homozygous for DJ123 at *qPef9* also significantly outperformed their Nerica4 allele counterparts (+34.8%) and parent Nerica4 (+61.9%).

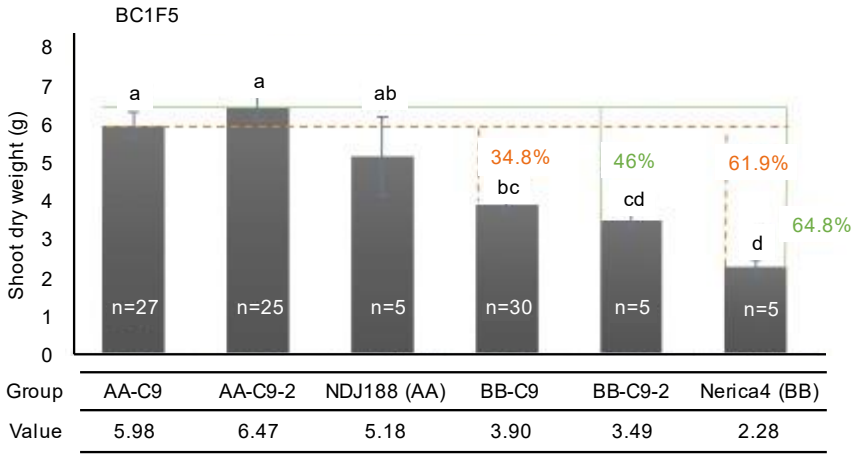


Figure 28: Confirmation of the QTL qPef9-2 and qPef9 on shoot weight trait in Madagascar at 90 DAS. Solid green lines point to the effect having AA alleles at qPef9-2 compared to either the BB alleles in BC1F5 lines or to recurrent parent Nerica4. Dotted orange lines point to the effects of having AA alleles at qPef9, compared to BB alleles or parent Nerica4. Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$, Tukey's HSD test).

4.5 Discussions

Upland rice has the potential to play an important role in satisfying the increasing demand for rice in SSA, but two recent global trends make improvements in upland rice productivity even more precarious. These are the increasing costs of fertilizers that place P fertilizer purchases out of reach of small-holder farmers (Tsujimoto et al. 2019), and global climate change leading to less predictable rainfall patterns that more strongly affect rice as a relatively drought-sensitive crop (Shaw et al. 2011). These combined effects are likely to particularly affect upland rice crop establishment on the highly weathered tropical soils such as Oxisols that represent the typical soils in upland rice farming regions of Madagascar (Rabeharisoa, 2004).

Such soils are characterized by strong sorption and low mobility of P and with less frequent rainfall, P mobility and therefore plant availability will decrease further because P mobility decreases sharply with reduced soil moisture (Marin et al. 2021).

Rapid seedling root development is a key trait to assure P uptake quickly reaches sufficiently high rates to support crop establishment after seed-P reserves have been depleted (Pariasca Tanaka et al. 2015) and the donor (DJ123) used in developing the QTL mapping population was found to be far superior to the recurrent parent Nerica4, which is characterized by rather slow seedling growth and root development when P is growth-limiting (Wissuwa et al. 2020). Identifying QTL for rapid seedling root development and seedling biomass accumulated under P deficiency in the Nerica4 genetic background could therefore be a potentially important step towards improving these traits in the otherwise well-adapted variety Nerica4.

5.4.1 QTL mapping and confirmation of QTL effects

QTL mapping was conducted in Japan on the same soil used to characterize the parental accessions and Nerica4 was confirmed to lack early seedling vigor while the majority of BC1F3 lines surpassed the recurrent parent. We detected 7 distinct QTL associated with traits RN, RW, SW, and TW. Three QTL detected for SW and TW on chromosomes 1, 6 and 9 jointly explained 47% of the variation for the respective traits. Given the tight correlation (r = 0.96) between SW and TW, it was expected that QTL for both biomass traits would overlap, as in the case of *qPef1* and *qPef6*, and possibly for the neighboring chromosome 9 loci *qPef9* and *qPef9-2* that may represent one large peak rather than two distinct loci, as to be discussed in a following paragraph.

The confirmation with a smaller set of lines in the subsequent BC1F5 generation was conducted in Japan and in the target upland rice region of central Western Madagascar where Nerica4 is a commonly grown variety. While most small-effect QTL could not be confirmed, *qPef9-2* and to a lesser extent *qPef9* showed very positive effects in Madagascar, from a 9.8% increase in crown root number to a 26.7% improvement of SW in 40-day old plants. The positive effect increased further over time to 46% higher SW at the late vegetative stage, indicating that QTL effects are not limited to the seedling stage. Instead, good seedling development under P deficiency was expected to lay the foundation for subsequent crop development and this appears to have been the case here. To what extent better root development was the driving factor for plant growth on these low-P soils cannot be answered with certainty, however, that chromosome 9 significantly increased RN in all 3 experiments may indicate that root development is a key process affected by *qPef9/qPef9-2*.

A question to be resolved through subsequent fine-mapping is whether chromosome 9 harbors two distinct and closely linked loci or whether *qPef9* and *qPef9-2* should in fact be considered as a single locus spanning the region from 9.19 to 12.92 Mb on chromosome 9. However, based on the evidence obtained in the current study, we may cautiously conclude that a single locus is the most likely scenario based on the confirmatory data obtained in Madagascar that no longer distinguishes shoot from root-related QTL effects. Furthermore, using the *seq/s* command in PlabQTL to return LOD estimates in 10 cM intervals for the 56 – 106 cM region on chromosome 9 indicated that the entire 66 – 106 cM region was above LOD 3.0 for biomass traits, with peaks at 66 and 96 cM (**Cf. Annexe 11**) but without a clear drop in significance between the peaks. Last but not least, a QTL region of 3.72 Mb size is not excessively large.

5.4.2 Supporting evidence from other QTL mapping studies

Several QTL associated with tolerance to P deficiency have been detected in rice (Wissuwa et al. 1998; Shimizu et al. 2004; Koide et al. 2013; Kale et al. 2021), of which the most influential appears to be the *Pup1* locus on chromosome 12 (Wissuwa et al. 1998, 2002). Among these studies, Shimizu et al. (2004) detected a QTL for P deficiency-induced root elongation under a hydroponic condition on chromosome 6 that appears to be overlapping with *qPef6* detected here for SW and TW. The same study also detected QTL for shoot dry weight under P deficiency and P deficiency-induced changes in shoot P content at very close positions, suggesting that root growth under P deficiency is linked with P uptake and shoot growth under P deficient conditions. Further investigations are necessary to determine if *qPef6* is related with root elongation and if such trait is relevant with P uptake and shoot growth under P-deficient field conditions. Other QTL detected by Kale et al. (2021) were located on chromosome 8, but seemingly towards the opposite end of chromosome from *qRNO8* detected here.

For the main QTL *qPef-9/qPef9-2* affecting root number and biomass traits, two studies detected QTL at similar positions in relation to biomass production in pot experiments under fertilized well-watered upland conditions. Mu et al. (2003) identified *RW9* between 12.41 – 18.49 Mb on chromosome 9 in the Yuefu x IRAT 109 population, explaining 18.5% of the variation for root dry weight. A second QTL at the very similar interval of 9.78 – 12.41 Mb was detected in the IAC165 x Co39 population, explaining 5.5 % of the variation for seedling shoot weight of plants (Courtois et al. 2003). Thus, a region containing *qPef-9* and *qPef9-2* might be responsible for root growth under upland conditions irrespective of P conditions, which enhance biomass production under P deficient conditions possibly by enhancing P uptake by extending the effective soil volume for P uptake.

4.6 Conclusions

We have detected and confirmed a strong QTL on chromosome 9 that increased crown root number and improved plant growth under P deficient conditions in Madagascar. Lines with the donor DJ123 alleles at this locus had more than 60% higher shoot biomass compared to recurrent parent Nerica4. The QTL identified here are practically relevant because they were detected and confirmed in the target genetic background of the local variety Nerica4. Superior performing lines of the mapping population can therefore enter multi-local yield trials in the target region.

Chapitre 5 : Discussions et conclusions Générales

5.1 Synthèse des résultats et validation des hypothèses

Le riz est l'aliment de base de la population malagasy, dont la consommation moyenne annuelle va de 154kg/personne par an. A part le faible rendement du riz à Madagascar, la saturation des bas-fonds n'arrivent plus à couvrir les besoins en riz au niveau des Hautes terres de Madagascar, qui est une zone fortement peuplée. La riziculture pluviale, initiée par le FOFIFA et le CIRAD a abouti à la création de variétés de riz pluvial d'altitude. Ces variétés ont permis le développement très rapide de la riziculture pluviale jusqu'plus de 1800m d'altitude. La variété CD a été la plus adoptée par les agriculteurs, avec un taux d'adoption de 80%. La réduction de la période de soudure et de la contrainte d'acheter du riz a été l'impact le plus important aux yeux des producteurs du riz pluvial (Breumier et al., 2018). Par ailleurs, le riz pluvial, a besoin de phosphore (P) pour une croissance et un développement optimal. Une carence en P dans le sol, la plante entraine changements physiologiques et morphologiques chez le riz. Un retard de la croissance ainsi que la réduction considérable de rendement en biomasse et en grains, malgré une coloration vert foncé au niveau des feuilles, sont les principaux indicateurs de la déficience en P. Par ailleurs les variétés efficientes développent des stratégies pour mieux s'adapter à la déficience en P dans le sol. Elles modifient leur morphologie et leur physiologie pour améliorer l'absorption et l'efficacité de l'utilisation du phosphore. L'objectif principal de cette étude est donc d'identifier les facteurs responsables de la productivité des variétés de riz pluvial au niveau des sols déficients en P à Madagascar ; plus précisément, de déterminer les facteurs clés sur l'adaptation des variétés tolérantes. Au niveau des sols déficients en phosphore, les variétés de riz pluvial issues de la sous-espèce *aus* incluant DJ123 ont été performantes en termes de biomasse et de rendement en grains (*Mori et al. 2016, Vandamme et al. 2016*). DJ est donc une variété tolérante, due à son RE élevé ainsi que sa capacite à acquérir P dans le sol, grâce à ses racines développées, pour assurer la production de biomasse, (Mori et al.2016, Wissuwa et al. 2020) et donner un rendement significatif. Par la suite, de nombreuses études (Mori et al.,2016, Vandamme et al., 2016., Wissuwa et al., 2020) ont confirmés que DJ123 a montré une vigueur racinaire élevée, produisant un système racinaire beaucoup plus grand que d'autres variétés, telle que la variété non tolérante, N4. Cette dernière, est moins performante au niveau de ces sols déficients en P (Saito et al., 2015b ; Atakora et al. 2015; Vandamme et al. 2016), ayant efficience racinaire significativement faible que celui de DJ123 (Wissuwa, et al. 2020). Enfin, Mori et al., a pu démontrer que la tolérance de DJ123 face à la déficience en P est liée à des allèles. Ces affirmations ont permis de formuler trois hypothèses :

Hypothèse 1 : Croisée avec Nerica4, la variété DJ123 pourrait donner des descendants ayant des traits de tolérance face à la déficience en P, meilleures que ceux des parents en termes de tolérance dans un sol déficient en phosphore.

Hypothèse 2 : Des traits racinaire spécifiques sont responsables de la tolérance des variétés sélectionnées à la déficience en P. Ces traits confèrent aux variétés une meilleure acquisition du phosphore du sol, puis une meilleure croissance et production de biomasse racinaire et aérienne.

Hypothèse 3 : La tolérance des descendants de la variété DJ123 croisés avec N4, face la déficience en P est expliqué par des QTLs identifiés dont l'allèle positif vient de DJ.

Récapitulation des résultats par chapitre et validation des hypothèses

Les principaux résultats du **chapitre 2** se concentraient sur la performance agronomique des variétés de riz pluvial issues du croisement entre DJ et N4. Les stades d'évaluations étaient, la stade végétatif (40DAS), la stade floraison pour le CAF et le stade de maturité pour l'évaluation de la biomasse at du rendement en grains. Sur un sol rouge, n'ayant jamais été fertilisé, une différence significative a été observée entre les parents DJ et N4 en termes de RN, et de biomasse en 40DAS, dont RN, SW. Les lignées NDJ étaient plus performantes que les variétés locales en termes de PDW, SW et CAF. Les critères de sélection des lignées issues du croisement étaient basés sur le PDW et le CAF. Les variétés qui performaient plus de N4 en termes de ces deux critères étaient sélectionnées pour la prochaine saison culturale. Durant la campagne culturale 2019-2020. Cinq lignées étaient plus performantes de N4 en termes de CAF et de rendement en grain. En 2019-2020, le PDW de V2 différait significativement de N4, avec un écart de rendement de 1.38Tonnes/ha, mais sur sol fertile, N4 rattrapait V2 en termes de rendement. La performance de la variété V6 en termes de productivité a été significativement plus faible que celle de N4 en milieu fertile, mais non significatifs en milieu déficient. Par ailleurs, en termes de CAF, elle a une différence maximum de 31 jours avec N4. V2 et V6 sont des variétés qui s'adaptent mieux dans des conditions pauvres en éléments nutritifs. Suite à ces résultats, il est confirmé que V2 et V6 sont plus performantes que N4, dans un milieu non-fertile, respectivement en termes de rendement en grain et de précocité. Par ailleurs, il n'était pas prouvé que le P était le seul facteur limitant lors des expérimentations. De plus le parent DJ123 n'était pas inclus dans les expérimentations, lors de l'évaluation de rendement. **L'hypothèse H1 est donc partiellement vérifiée.**

Dans le chapitre 3, DJ, V6 et V2 ont une biomasse aérienne significativement plus considérable que N4, dans un milieu déficient en P (5mg de P/KG de sol), durant le stade végétatif. Cette performance est proportionnelle à la teneur en P au niveau de la paille. Ces trois variétés ont acquis 2 fois plus de P que N4 en 37DAS (EP), au niveau de la paille, et parallèlement, SW de DJ et V6 est trois fois plus élevée que celui de N4 en 37DAS. Ce qui veut dire qu'en plus d'une acquisition importante, DJ et V6 ont une PUE élevée pour la formation de biomasse. Par contre pour V2, la production de biomasse n'est pas proportionnelle avec l'acquisition en P. Son RSR était la plus élevée (0.66 contre 0.49 pour V6), à cause

d'une biomasse racinaire supérieure que la biomasse aérienne. De plus, RE de V2 et de V6 était significativement plus élevé de DJ et N4. En guise de conclusion, de ce chapitre 3, V2 et V6 sont performantes que N4 tout en ayant des traits ou de stratégies similaires que différentes, de DJ. De plus, sur les traits tels que TIPS (nombre total de racines), et SW, et RE, V6 dépasse la performance de DJ. De même, V2 devance DJ en termes de P acquis au niveau des pailles, ainsi que proportion de CR. **Ces résultats confirment par conséquent l'hypothèse H2**, stipulant que des traits racinaires spécifiques sont responsables de la tolérance des variétés sélectionnées à la déficience en P. Ces traits confèrent aux variétés une meilleure acquisition du phosphore du sol, puis une meilleure croissance et production de biomasse racinaire et aérienne.

Dans le chapitre 4, les expérimentations au Japon ont permis de détecter 10 QTLs distincts, expliquant la variation des traits quantitatifs dont RN, SW, RW et TW ; en 40DAS, sur les lignées issues de la génération F3. Deux principaux QTLs, sur le chromosome 9 ont été redétectés, sur les lignées BC1F5 lors des expérimentations à Madagascar et au Japon. Le QTL qPef9 expliquait 11.5% de la variation du RN, 12.7% de la variation de RW et 19.7% de la variation de la biomasse totale, en F3. Par ailleurs en F5, il augmentait RN de 5% seulement, tandis que la valeur de SW a été augmenté de 14% grâce à ce QTL. En outre, le QTL qPef9-2, responsable de la variation de 15.7% de SW en F3 a augmenté 26.7% de la variation de SW en F5. L'intervalle de des deux QTLs se chevauchaient en F5, d'où une possibilité que ces deux seraient en fait un seul QTL avec un large intervalle de 8MB a 12.9Mb. En effet qPef9-2 a augmenté significativement 46% des valeurs de SW en 70DAS. Les deux QTLs du chromosome 9, proviennent de l'allèle de DJ123, et les lignées possédant cet allèle ont eu une bonne vigueur par rapport à celles qui ne la possèdent pas, sur sol non fertilisé. **Par conséquent, les résultats émanant du chapitre 4 vérifient partiellement l'hypothèse H3**, vu qu'il n'a pas été vérifié que V2 et V6 possédaient ou non les QTLs qPef9 et qPef9-2.

5.2 Des variétés efficientes en P pour Madagascar

Le croisement entre DJ123 et N4 ont donné les lignées NDJ, incluant les variétés V2, V6 et ainsi que NDJ188-1-1-1-1 qui était rétrocroisée avec N4. La partie 1 avait pour objectif de sélectionner des variétés qui sont plus productifs et performantes en milieu non-fertiles, que ce soit en termes de rendement ou en termes de précocité. La partie 2 quant à elle, traitait les caractéristiques physiologiques lies à l'efficience en P des variétés sélectionnées, pour déterminer le caractère lié à l'efficience en P des variétés. Toutes les expérimentations de la partie 1 ont été conduites à Madagascar, tandis que les essais expérimentaux du chapitre 2 ont été réalisés au Japon. Par ailleurs, les essais de la partie 1 ont conduits à la fois au Japon et à Madagascar. Le type de sol au Japon était andosol, tandis qu'à Madagascar, le sol est

de type ferralitique. Dans le chapitre 1, V2, en condition faible fertilité de sol, avait un rendement en grain, significativement plus élevé que N4 (**Fig13.C**), avec, une différence significative de 400kg à 1300kg. Il a été prouvé dans cette étude que le rendement en grain variait significativement selon le niveau de fertilité du sol, et que N4 plus performante quand le sol est riche. Toutefois dans le chapitre 3, les traits racinaires de N4 et de V2 s étaient plus ou moins identiques, sauf pour la proportion de CR. En effet, il a été stipulé que la performance de DJ résidait dans la formation rapide de CR lors des stades plus précoces, c'est-à-dire moins de 40DAS. Vu que RN de DJ était significativement plus élevé que N4 (Fig.8), la proportion de CR élevé de V2 est par conséquent un trait hérité du parent DJ. En effet, selon le chapitre 4, un QTL lie au C9 a été identifié, lie au RN. Il se pourrait que V2 possède aussi ce QTL, ce locus conféré par l'allèle issus de DJ. Toutefois, en 65 DAS, V2 acquiert plus de P que les trois autres variétés, il y a donc une forte possibilité que des modifications significatives de passent soit au niveau de la structure racinaire, soit au niveau de l'utilisation interne de P, a l'occurrence, la remobilisation de P. Autrement, le rendement de V6, était stable, malgré la variation de la fertilité du sol d'un site à un autre. Toutefois, durant les stades végétatifs. V6 acquerait plus de P au niveau de des pailles, et les nombre de racines type-S était significativement plus abondantes que N4 et de V2. En conclusion, avait une bonne vigueur avant la stade reproductive grâce aux traits racinaires et a l'utilisation interne de P. De plus, le chapitre 1 a confirmé que V6 était une variété précoce, avec une différence de CAF de 31 Jours au maximum avec N4. Cette précocité pourrait être une cause de la vigueur des variétés. Il serait donc possible que les variétés précoces aient une bonne vigueur que les autres variétés (qui sont tardives), et pourraient même être plus compétitives durant les stades végétatifs précoces. Mais selon les études, de 10DAS a 30DAS, 80% de la variation de la vigueur des variétés de riz pendant les stades végétatifs précoces est due à la source et aux caractéristiques des semences (Shi et al., 2020), notamment le taux de P dans les grains. Le chapitre 4 a conclu que le QTL qpef9-2, dont l'allèle venait de DJ conférait à la variété une bonne vigueur même en cas de déficience en P. Les lignées possédant ce QTL avaient un gain de 46% par rapport à celles qui ne l'avaient pas en 40 et 70 DAS (Ranaivo et al., 2022). Considérant ces résultats, V6 pourrait avoir cet allèle. En somme, il existe une interrelation entre les trois chapitres relatant que la performance de V2 en termes de rendement au niveau d'un sol non-fertile dans la partie 1, est liée aux traits racinaires et physiologiques lors du stade végétative décrits dans le chapitre 2, et des QTLs dont l'allèle positive est issu du parent DJ123, identifiés dans le chapitre 3 expliquent les mêmes traits. Malgré que la teneur en P du sol de tous les sites n'étaient pas identifiés dans le chapitre 2, le sol utilisé des expérimentations dans le chapitre 3 avait 5mg de P par kg de sol. Cela explique en effet que V2 est une variété efficiente en P, durant le stade végétatif (Chapitre 3) et le stade reproductif (Chapitre 2). En cas de déficience en P, les traits racinaires ont un rôle important dans l'acquisition de P, pour assurer ensuite la production de biomasse, ainsi que la formation des talles,

induisant ainsi un haut rendement (confirmé par Richardson et al., 2011). Toutefois, pour les variétés, précoces, même si elles ont une bonne et rapide vigueur durant le stade de croissance, leur précocité de ne leur permettent pas d'assurer un haut rendement.

5.3 Limites et perspectives

Premièrement, Lors des expérimentations, N4 s'est avérée performante quand le niveau de fertilité de sol est élevé (**Fig.11**). Le rendement de N4 variait de 1t/ha à 6t/ha, selon le niveau de fertilité de sol. Malgré que les analyses de sols, n'ont pas été fait sur les sites d'expérimentions, la variation de rendement de N4 par rapport à V2 pourrait être un bon indicateur de fertilité de sol, indiquant que si le rendement de N4 dépasse celui de V2, le niveau est déjà assez élevé. Néanmoins, cette étude n'a pas pu confirmer si la déficience au niveau des sols de l'expérimentation du chapitre 2, étaient déficients en P ou en N ou les deux. Une étude plus approfondie serait donc nécessaire pour mieux déterminer quels sont les facteurs clés responsables de la performance de N4 ne milieu fertile, tels que l'analyse de sol, et des fumiers. De plus, que des caractérisations racinaires en milieu riche en P et en N serait aussi un complément d'informations. Deuxièmement, Durant le stade végétatif, le développement racinaire de V2 a été lente, tout comme celui de N4, dans le chapitre 3. Mais au champ, à partir de 50 DAS, la teneur en P au niveau des pailles de V2 a augmenté, devenant significativement plus élevée que celui de DJ. Cette étude n'a pas pu relater cette performance a un trait racinaire. Par conséquent, une prise en compte d'évaluation racinaire dans un stade phénologique beaucoup plus avancer est à recommander, pour mieux comprendre, l'efficience en P de V2. Il a été prouvé que la performance de V2 et de V6 venait principalement du parent DJ, mais lors des essais de rendement, DJ n'a pas été inclus par faute de disponibilité de semences. Comme perspectives, un essai de rendement, dans un milieu faible en P (confirme par une analyse de sol), incluant DJ serait à recommander. Troisièmement, il a été prouvé dans cette étude que V2 s'adaptait à des milieux non fertiles, voire pauvre en P. ultérieurement, V2 sera homologuée en tant que variété tolérante a la déficience en P, dans la zone d'Ankazomiriotra. Toutefois, dans le chapitre 2, il a été confirmé qu'a un certain niveau de fertilité, N4 dépasse V2 en termes de rendement en grains. Il est presque impossible de deviner le niveau de fertilité de sol pour recommander une certaine variété. Par ailleurs, un essai de rendement a été effectué lors de la saison culturale 2022-2023, et il a été confirmée qu'en appliquant du fumier seul, le rendement de V2 est significativement plus élevé que celui de N4 et d'autres variétés locales tels que CD.

Références bibliographiques

Abbas, M., Irfan, M. & Shah, J. A. (2018). Differential performance of wheat genotypes for grain yield, phosphorus uptake and utilization at low and high phosphorus levels. *Proc. Pak. Acad. Sci.: B. Life Environ. Sci.* 55, 55–64.

Abdallah, M. et al. (2010) Effect of mineral Sulphur availability on nitrogen and Sulphur uptake and remobilization during the vegetative growth of Brassica napus L. J. Exp. Bot. 61, 2635–2646.

Adem, G. D., Ueda, Y., Hayes, P. E., & Wissuwa, M. (2020). Genetic and physiological traits for internal phosphorus utilization efficiency in rice. PloS one, 15(11), e0241842. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241842

Akinkunmi, M. A. (2017). Analysis of access to credit and agriculture performance in Sub-Saharan Africa. International Journal of Agricultural Economics, 2(6), 160-164. https://doi.org/10.11648/j.ijae.20170206.11

Alewell, C., Ringeval, B., Ballabio, C. et al. (2020) .Global phosphorus shortage will be aggravated by soil erosion. *Nat Commun* 11, 4546. https://doi.org/10.1038/s41467-020-18326-7

Andriamananjara A, Rakotoson T, Razanakoto OR, Razafimanantsoa M-P, Rabeharisoa L, Smolders E .(2018). Farmyard manure application in weathered upland soils of Madagascar sharply increase phosphate fertilizer use efficiency for upland rice. Field Crop Res 222:94–100

Andriamananjara, A., Rakotoson, T., Razafimbelo, T., Rabeharisoa, L., Razafimanantsoa, M.-P., Masse, D., 2019. Farmyard manure improves phosphorus use efficiency in weathered P deficient soil. Nutr Cycl Agroecosyst.

Andrianary, H.B., Tsujimoto, Y., Rakotonindrina, H., Oo, A., Rabenarivo, M., Ramifehiarivo, N., Razakamanarivo, H. (2021). Phosphorus application affects lowland rice yields by changing phenological development and cold stress degrees in the central highlands of Madagascar. *Field Crop Res*. 271. 108256. 10.1016/j.fcr.2021.108256.

Arraudeau MA.(1995).Upland rice: challenges and opportunities in a less favourable ecosystem. GeoJournal 35:325–328).

Ashikari M, Ma JF. (2015). Exploring the power of plants to overcome environmental stresses. Rice 8:10. https://doi.org/10.1186/s12284- 014- 0037-

Atakora,W. K., Fosu, M., Abebrese, S. O., Asanta, M., Wissuwa, M. (2015) .Evaluation of low phosphorus tolerance of rice varieties in northern Ghana. *Sust Agric Res* 4, 109–114. https://doi.org/10.5539/sar.v4n4p109.

Atlin GN, Laza M, Amante M., Lafitte HR. (2004) Agronomic performances of tropical aerobic, irrigated, and traditional upland rice varieties in three hydrological environments at IRRI, in New Directions for a Diverse Planet: Proceedings of the 4th International Crop Science Congress.

Atlin, G.N., Lafitte, H.R., Tao, D., Laza, M., Amante, M., Courtois, B. (2006). Developing rice cultivars for highFertility upland systems in the Asian tropics. Field Crops Res 97:43–52.

Aziz, T., Ahmed, I., Farooq, M., Maqsood, M. A. & Sabir, M .(2011). Variation in phosphorus efficiency among *Brassica* cultivars I: Internal utilization and phosphorus remobilization. *J. Plant Nutr.* **34**, 2006–2017.

Baird, N. A., Etter, P. D., Atwood, T. S., Currey, M. C., Shiver, A. L., Lewis, Z. A., Selker, E. U., Cresko, W. A., Johnson, E. A. (2008).. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PloS one* 3, e3376. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376

Balamurugan, P., and V. Balasubramanian. (2017). Challenges and opportunities for increasing rice production in Sub Saharan Africa. Journal of Innovative Agriculture 4 (2):1–10

Balasubramanian, V. , Sie, M. , Hijmans, R. J. , & Otsuka, K. (2007). Increasing rice production in sub-Saharan Africa: Challenges and opportunities. *Advances in Agronomy , 94* , 55–133.10.1016/S0065-2113(06)94002-4

Bargaz, A., Lyamlouli, K., Chtouki, M., Zeroual ,Y., Dhiba, D .(2018). Soil microbial resources for improving fertilizers efciency in an integrated plant nutrient management system. Front Microbiol 9:1606

Bates, T.R.; Lynch, J.P. (2001). Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. *Plant Soil*, 236, 243–250.

Batjes NH. (2012). ISRIC-WISE derived soil properties on a 5 by 5 arc-minutes global grid (ver. 1.2). Report 2012/01, ISRIC-World Soil Information Wageningen (2012), pp. 1-52

Bekunda ,M., Sanginga, N., Woomer, P.L. (2010). Chapter Four -Restoring Soil Fertility in Sub-Sahara Africa *Adv. Agron*., 54 pp. 183-236, 10.1016/s0065-2113(10)08004-1

Bolger, A.M., Lohse, M., and Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics 30, 2114–2120. doi: 10.1093/ bioinformatics/btu170

Bradbury, P. J., Zhang, Z., Kroon, D. E., Casstevens, T. M., Ramdoss, Y., Buckler, E. S. (2007). TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23, 2633–2635. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308.

Broman, K. W., Wu, H., Sen, S., Churchill G.A. (2003) R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19, 889-890. doi: 10.1093/bioinformatics/btg112.

Chen L, Lin L, Cai G, Sun Y, Huang T, et al. (2014). Identification of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium Deficiencies in Rice Based on Static Scanning Technology and Hierarchical Identification Method. *PLoS ONE* 9(11): e113200.doi:10.1371/journal.pone.0113200

Chin ,J.H, Lu, X., Haefele, S.M, Gamuyao, R., Ismail, A., Wissuwa, M., Heuer, S .(2010). Development and application of gene-based markers for the major rice QTL Phosphorus uptake 1. *Theor Appl Genet* 120: 1073–1086

CIAT, [Online]. Available: http://www.ciat.cgiar.org/ciatinfocus/rice.htm [8 July 2007].

Cordell, D., Drangert, J.O, White, S .(2009). The story of phosphorus: global food security and food for thought. *Glob Environ Change* 19: 292–305

Courtois, B., Shen, L., Petalcorin, W., Carandang, S., Mauleon, R., and Li, Z.(2003). Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 × Co39. Euphytica 134, 335–345. doi: 10.1023/B:EUPH.0000004987.88718.d6.

Dakora, F and Phillips, D. (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. Plant and Soil. 245. 35-47. 10.1023/A:1020809400075.

Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean, G., Durbin, R.(2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 27, 2156–2158. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330.

De Bauw, P., Mai, H.T., Schnepf, A., Merckx, R., Smolders, E., Vanderborght, J., .(2020). A functional–structural model of upland rice root systems reveals the importance of laterals and growing root tips for phosphate uptake from wet and dry soils, *Annals of Botany*, Volume 126, Issue 4, Pages 789–806, https://doi.org/10.1093/aob/mcaa120

De Bauw P, Shimamura E, Rakotoson T et al (2020b) Farm yard manure application mitigates aluminium toxicity and phosphorus deficiency for different upland rice genotypes. J Agron Crop Sci 207:148–162. https://doi.org/10.1111/jac.12436.

Den Herder, G., Van Isterdael, G., Beeckman, T., & De Smet, I. (2010). The roots of a new green revolution. Trend plant sci, 15(11), 600–607. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.08.009.

Diagne, A., Alia, D. , Amovin-Assagba, E. , Wopereis, M. S. C. , & Saito, K. (2013). Farmer perceptions of the biophysical constraints to rice production in sub-Saharan Africa, and potential impact of research. In M. C. S. Wopereis , D. E. Johnson , N. Ahmadi , E. Tollens , & A. Jalloh (Eds.), *Realizing Africa's rice promise* (pp. 46–68). Wallingford: CAB International.10.1079/9781845938123.0000

Diagne, A., Kinkingninhoun-Medagbe, F.M. , Amovin-Assagba, E. , Nakelse, T. , Sanni, K. , Toure, A. (2015). Evaluating the key aspects of the performance of genetic improvement in priority food crops and countries in sub-Saharan Africa: The case of rice. In T. S. Walker & J. Alwang , (Eds.) *Crop improvement, adoption, and impact of improved varieties in food crops in sub-Saharan Africa* (pp. 183–205). Wallingford: CAB International.10.1079/9781780644011.0000

Dogbe, W., Sogbedji, J. M., & Buah, S. S. J. (2015). Site-specific nutrient management for lowland rice in the Northern Savannah Zones of Ghana. *Current Agriculture Research Journal*, *3*(2), 109–117. https://doi.org/10.12944/CARJ.3.2.04

DoVale, J.; Fritsche-Neto, R. Root Phenomics. In Phenomics; Fritsche-Neto, R., Borém, A., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2015; pp. 49–66.)

Dzido, J.L., Vales, M., Rakotoarisoa, J., Chabanne, A., Ahmadi, N., 2004. Upland rice for highlands: new

varieties and sustainable cropping systems for food security. Promising prospects for the global challenges of rice production. In: Paper Pre- sented at the FAO Rice Conference 2004: Rice in Global Markets, 12–13 February, Rome, p. 11.

Elferink M, Schierhorn F. (2016) .Global demand for food is rising. Can we meet it? Harv Bus Rev 7:2016

Fageria NK .(1980). Influence of phosphorus application on growth, yield and nutrient uptake by irrigated rice. Revista Brasileira de Ciência do Solo 4:26–31 Fageria NK (2001) Screening method of lowland rice genotypes for zinc uptake efficiency. Scientia Agricola 58:623–626

Fageria NK, Slaton NA and Baligar VC. (2003). Nutrient management for improving lowland rice productivity and sustainability. Advances in Agronomy 80:63–152

Fahad S, Adnan M, Noor M et al (2019) Major constraints for global rice production. In: Advances in rice research for abiotic stress tolerance. Elsevier, Amsterdam, pp 1–22

Fahad S, Bajwa AA, Nazir U et al .(2017) .Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options. Front Plant Sci 8:1147

Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. *Introduction to Quantitative Genetics*, 4th ed. (London, Prentice Hall,

FAOSTAT . (2012). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved June 21, from http://faostat.fao.org

FAOSTAT. (2019). Food and agriculture organization statistical database, United Nations. http://faostat.fao.org

Fisher AJ, Ramırez HV, Gibson KD and Da Silveira Pinheiro B, Competitiveness of semidwarf upland rice cultivars against palisadegrass (Bracharia brizantha) and signalgrass (B. decumbens). Agron J 93:967–973 (2001).

Frei M, Becker K. (2005). Integrated rice-fish culture: coupled production saves resources. Nat Resour Forum 29:135–143. https://doi.org/10.1111/j.1477- 8947.2005.00122.x

Futakuchi K, Sié M. (2009). Better exploitation of African rice (Oryza glaberrima Steud.) in varietal development for resource-poor farmers in West and Central Africa. Agric J 4:96–102.

Gamuyao, R., Chin, J. H., Pariasca-Tanaka, J., Pesaresi, P., Catausan, S., Dalid, C., Slamet-Loedin, I., Tecson Mendoza, E. M., Wissuwa, M., Heuer, S. (2012) .The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature 488*, 535–539. https://doi.org/10.1038/nature11346.

George, T.S., Gregory, P.J., Wood, M., Read, D., Buresh, R.J. (2002). Phosphatase activity and organic acids in the rhizosphere of potential agroforestry species and maize. Soil Biol. Biochem. 34, 1487 1494

González-Schain N, Dreni L, Lawas LMF, Galbiati M, Colombo L, Heuer S, Jagadish KSV, Kater MM .(2016).

Genome-wide transcriptome analysis during anthesis reveals new insights into the molecular basis of heat stress responses in tolerant and sensitive rice varieties. Plant Cell Physiol 57:57–68

Gonzalez, D., Postma, J., and Wissuwa, M. (2021). Cost-benefit analysis of the upland-rice root architecture in relation to phosphate: 3D simulations highlight the importance of s-type lateral roots for reducing the pay-off time. Front. Plant Sci 12. doi: 10.3389/fpls.2021.641835

Gridley, H., Jones, M., and Wopereis-Pura, M. (2002). Development of New Rice for Africa (Nerica) and participatory varietal selection. In Witcombe, J., Parr, L., and Atlin, G. (eds.), Breeding rainfed rice for drought-prone environments: Integrating conventional and participatory plant breeding in South and Southeast Asia. Centre for Arid Zone Studies, University of Wales, Gwynedd, pp. 23–28.

GRiSP (Global Rice Science Partnership) .(2013) .Rice almanac, 4th edn. International Rice Research Institute, Los Baños. 283 p

Haefele, S. M. , Nelson, A. , & Hijmans, R. J. (2014). Soil quality and constraints in global rice production. *Geoderma , 235–236* , 250–259.10.1016/j.geoderma.2014.07.019

Haling, R.E.; Brown, L.K.; Bengough, A.G.; Young, I.M.; Hallett, P.D.; White, P.J.; George, T.S. (2013).Root hairs improve root penetration, root-soil contact, and phosphorus acquisition in soils of different strength. J. Exp. Bot. 2013, 64, 3711–3721.

Hansen JC, Cade-Menun BJ, Strawn DG . (2004) .Phosphorus speciation in manure-amended alkaline soils. J Environ Qual 33: 1521–1527

Harrison AF .(1987). Soil Organic Phosphorus—A Review of World Literature. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, p 257

Harvey, C. A., Rakotobe ZL, Rao NS, Dave R, Razafimahatratra H, Rabarijohn RH, Mackinnon JL. (2014). Extreme Vulnerability of Smallholder Farmers to Agricultural Risks and Climate Change in Madagascar, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369(1639):1-12.

Henry A, Gowda VRP, Torres RO, McNally KL, Serraj R .(2011) .Variation in root system architecture and drought response in rice (Oryza sativa): Phenotyping of the OryzaSNP panel in rainfed lowland fields. *Field Crop Res* 120:205–214

Heredia, M. C., Kant, J., Prodhan, M. A., Dixit, S., Wissuwa, M. (2021) Breeding rice for a changing climate by improving adaptations to water saving technologies. *Theor Appl Genet*. 135, 17-33. doi: 10.1007/s00122-021-03899-8

Hoffland E, Wei CZ, Wissuwa M. (2006) .Organic anion exudation by lowland rice (Oryza sativa L.) at zinc and phosphorus deficiency. Plant Soil 283(1–2):155–162

Irfan, Muhammad; Aziz, Tariq; Maqsood, Muhammad Aamer; Bilal, Hafiz Muhammad; Siddique,

Kadambot H. M.; Xu, Minggang .(2020). Phosphorus (P) use efficiency in rice is linked to tissue-specific biomass and P allocation patterns. *Scientific Reports*, 10(1), 4278–. doi:10.1038/s41598-020-61147-3

International Rice Research Institute. (2013). *IRRI strategic assessment*. (Unpublished dataset). Los Baños: IRRI.

Jones, M.P., Mande, S., Aluko, K. (1997b). Diversity and potential of Oryza glaberrima Steud in upland rice breeding. Jpn J Breed 47:395–398. https://doi.org/10. 1270/jsbbs1951.47.395.

Julia, C. C., Rose, T. J., Pariasca-Tanaka, J., Jeong, K., Matsuda, T., & Wissuwa, M. (2018). Phosphorus uptake commences at the earliest stages of seedling development in rice. *Journal of experimental botany*, *69*(21), 5233–5240. https://doi.org/10.1093/jxb/ery267

Kale, R. R., Durga Rani, C. V., Anila, M., Mahadeva Swamy, H. K., Bhadana, V. P., Senguttuvel, P., et al. (2021). Novel major QTLs associated with low soil phosphorus tolerance identified from the Indian rice landrace, wazuhophek. PloS One 16, e0254526. doi: 10.1371/journal.pone.0254526.

Kano, M., Inukai, Y., Kitano, H., Yamauch,i A. (2011). Root plasticity as the key root trait for adaptation to various intensities of drought stress in rice. *Plant Soil* 342, 117–128.

Kearsey, M.J. (1998). The principles of QTL analysis (a minimal mathematics approach). *J Exp Bot* **49**, 1619–1623.

Khush ,G.S. (1997). Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. Plant Mol Biol 35:25–3

Kirk, G.J.D. (1999) . A model of phosphate solubilization by organic anion excretion from plant roots. *European Journal of Soil Science*, 50(3), 369–378. Available from: https://doi.org/10.1111/j.1365-2389. 1999.00239.x

Kirk, G.J.D., Santos, E.E., Santos, M.B. (1999). Phosphate solubilization by organic anion excretion from rice growing in aerobic soil: rates of excretion and decomposition, effects on rhizosphere pH and effects on phosphate solubility and uptake. New Phytologist, 142(2), 185–200.

Kirk, G. (2004). *The Biogeochemistry of Submerged Soils*. John Wiley & Sons. https://doi.org/10.1002/047086303X

Kobayashi, M., Ohyanagi, H., Takanashi, H., Asano, S., Kudo, T., Kajiya-Kanegae, H. et al. (2017) . Heap: A highly sensitive and accurate SNP detection tool for low-coverage high-throughput sequencing data. *DNA Res.* 24, 397–405.

Koide, Y., Pariasca Tanaka, J., Rose, T., Fukuo, A., Konisho, K., Yanagihara, S., Fukuta, Y., Wissuwa, M. (2013). QTLs for phosphorus-deficiency tolerance detected in upland NERICA varieties. *Plant Breed*. 132, 259-265. https://doi.org/10.1111/pbr.12052.

Koyama, T.; Chammek, C.; Snitwonge, P. Varietal differences of Thai rice in the resistance to phosphorus Deficiency. (1973) .Tech. bull. Trop. Agric. Res. Cent. 1973, 4, 32.

Kuppe, C.W., Schnepf, A., von Lieres, E., Watt, M. & Postma, J.A. (2022). Rhizosphere models: their concepts and application to plant-soil ecosystems. Plant and Soil. Available from: https://doi.org/10.1007/ s11104-021-05201-7

Li, J., Xie, Y., Dai, A., Liu, L., Li, Z .(2009). Root and shoot traits responses to phosphorus deficiency and QTL analysis at seedling stage using introgression lines of rice. , 36(3), 173–183. doi:10.1016/s1673-8527(08)60104-

Li, Z., Mu, P., Li, C., Zhang, H., Li, Z., Gao, Y., Wang, X. (2005). QTL mapping of root traits in a doubled haploid population from a cross between upland and lowland japonica rice in three environments. *Theor Appl Genet*. 110, 1244-1252. doi: 10.1007/s00122-005-1958-z.

Li, H., Durbin, R. (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25, 1754–1760. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp324

Li, H., Handsaker, B., Wysoker, A., Fennell, T., Ruan, J., Homer, N., Marth, G., Abecasis, G., Durbin, R. (2009). The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25, 2078–2079. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp352

Li, X., Lawas, L.M.F., Malo, R., Glaubitz, U., Erban, A., Mauleon, R., Heuer, S., Zuther, E., Kopka, J., Hincha, D.K., Jagadish, K.S.V. (2015). Metabolic and transcriptomic signatures of rice floral organs reveal sugar starvation as a factor in reproductive failure under heat and drought stress. *Plant Cell Environ* 38: 2171–2192.

Lindsay,W.L. Chemical Equilibria in Soils; JohnWiley and Sons Ltd.: Hoboken, NJ, USA, 1979; ISBN 0471027049.

Londo JP, Yu-Chung C, Kuo-Hsiang H, Tzen-Yuh C, Barbara AS .(2006). Phylogeography of Asian wild rice, Oryza rufipogon, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, Oryza sativa. PNAS 103:9578

López-Bucio, J.; Cruz-Ramí rez, A.; Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. Curr. Opin. *Plant Biol.* 2003, 6, 280–287.

Lu, H., Liu, Z., Wu, N., Berne, S., Saito, Y., Liu, B. (2002). Rice domestication and climatic change: phytolith evidence from East China. Boreas 31:378–385

Lynch, J.P. (1995). Root architecture and plant productivity. *Plant Physiol* 109: 7–13

Lynch, M., & Walsh, B. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits* (Sunderland, MA, Sinauer, 1998)

Lynch, J.P.; Brown, K.M. Topsoil foraging—An architectural adaptation of plants to low phosphorus availability.(2001). Plant Soil, 237, 225–237.

Lynch, J.P., Brown, K.M. (2008). Root strategies for phosphorus acquisition. Plant Ecophysiology, 7, pp.83-116

Lynch, J.P. Root phenes that reduce the metabolic costs of soil exploration: Opportunities for 21st century agriculture. (2014). Plant Cell Environ., doi:10.1111/pce.12451.

Louw-Gaume, A.E., Schweizer, N., Rao, I.M., Gaume, A.J., Frossard, E., (2017). Temporal differences in plant growth and root exudation of two Brachiaria grasses in response to low phosphorus supply. Trop. Grasslands-Forrajes Trop. 5, 103–116.

Maiti D, Variar M, Singh RK. (2011). Optimizing tillage schedule for maintaining activity of the arbuscular mycorrhizal fungal population in a rainfed upland rice (Oryza sativa L.) agroecosystem Mycorrhiza 21(3):167–171

Manschadi, A. M., Kaul, H. P., Vollmann, J., Eitzinger, J. & Wenzel, W. (2014). Developing phosphorus-efficientcrop varieties: An interdisciplinary research framework. *Field Crops Res.* **162**, 87–98

Marin, M., Feeney, D. S., Brown, L. K., Ruiz, S., Koebernick, N., Bengough, A. G., Hallett, P. D., Roose, T., Puértolas, J., Dodd, I. C., George, T. S. (2021). Significance of root hairs for plant performance under contrasting field conditions and water deficit. *Ann bot*, 128, 1–16. https://doi.org/10.1093/aob/mcaa181

Marschner, P., Rengel, Z., (2012) . Chapter 12 - nutrient availability in soils. In: Marschner, P. (Ed.), Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, third ed. Academic Press, San Diego, pp. 315–330. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00012-1.

Matsushima, C., Shenton, M., Kitahara, A., Wasaki, J., Oikawa, A., Cheng, W., Ikeo, K., & Tawaraya, K. (2021). Multiple analysis of root exudates and microbiome in rice (Oryza sativa) under low P conditions. *Archives of microbiology*, *203*(9), 5599–5611. https://doi.org/10.1007/s00203-021-02539-

Menge, D,M. (2016). Drought-induced root plasticity of two upland NERICA varieties under conditions withcontrasting soil depth characteristics. *Plant Prod. Sci*.19,389–400.

Miguel, M.A.; Postma, J.A.; Lynch, J. (2015). Phene synergism between root hair length and basal root growth angle for phosphorus acquisition. *Plant Physiol*, 167, 1430–1439.

Ming, F., Zheng, X., Mi, G. et al. (2000) Identification of quantitative trait loci affecting tolerance to low phosphorus in rice (*Oryza sativa* L.). *Chin. Sci. Bull.* 45, 520–525. https://doi.org/10.1007/BF02887097

Minten, B., J. Randrianarisoa, and C. B. Barrett. (2007). Productivity in Malagasy Rice Systems: Wealth-Differentiated Constraints and Priorities, *Agricultural Economics* 37: 225-237.

Molden, D .(2013) .Water for food, water for life: a comprehensive assessment of water management in agriculture. Routledge, London.

Moncada, P., Martinez, C.P., Borrero, J., Chatel, M., Gauch, Jr. H., Guimaraes, E. (2001). Quantitative trait loci for yield and yield components in an Oryza sativa × Oryza rufipogon BC2F2 population evaluated in an upland environment. Theor Appl Genet 102:41–52.

Money, D., Gardner, K., Migicovsky, Z., Schwaninger, H., Zhong, G. Y., Myles, S. (2015). LinkImpute: Fast and Accurate Genotype Imputation for Nonmodel Organisms. *G3 Genes Genomes Genetics* 5, 2383–2390. https://doi.org/10.1534/g3.115.021667

Mori A, Fukuda T, Vejchasarn P, Nestler J, Pariasca-Tanaka J, Wissuwa M. (2016a). The role of root size versus root efficiency in phosphorus (P) acquisition of rice. J Exp Bot. https://doi.org/10.1093/jxb/erv557

Moser, C. M. and C. B. Barrett .(2003). The Disappointing Adoption Dynamics of a Yield-Increasing, Low External Input Technology: The Case of SRI in Madagascar, *Agricultural Systems* 76(3): 1085-1100.

Mu, P., Li, Z., Li, C. et al. (2003). QTL mapping of the root traits and their correlation analysis with drought resistance using DH lines from paddy and upland rice cross. *Chin. Sci. Bull.* 48, 2718–2724. https://doi.org/10.1007/BF02901763

Nadeem, M., Mollier, A., Morel, C., Vives, A., Prud'homme, L., Pellerin, S. (2011). Relative contribution of seed phosphorus reserves and exogenous phosphorus uptake to maize (Zea mays L.) nutrition during early growth stages. *Plant Soil*, 346, 231–244.

Nestler, J., Wissuwa, M., (2016). Superior root hair formation confers root efficiency in some, but not all, rice genotypes upon P deficiency. Front. Plant Sci. 7, 1935. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01935.

Nguyen, T.T.T., Klueva, N., Chamareck, V., Aarti, A., Magpantay, G., Millena, A.C.M., Pathan, M.S., Nguyen, H.T., (2004). Saturation mapping of QTL regions and identification of putative candidate genes for drought tolerance in rice. Mol. Genet. Genomics 272, 35–46.

Nigatu, G., Hansen, J., Childs, N., Seeley, R. (2017). Sub-Saharan Africa is projected to be the leader in global rice imports. *Amber Waves* 9, 17. doi: 10.22004/AG.ECON.266026

Nishigaki, T., Tsujimoto, Y., Rinasoa, S., Rakotoson, T.,Andriamananjara, A., & Razafimbelo, T. (2019). Phosphorus uptake of rice plants is affected by phosphorus forms andphysicochemical properties of tropical weathered soils. *Plant and Soil*, *435*(1), 27–38. https://doi.org/10.1007/s11104-018-3869-1

Niu, Y.; Chai, R.; Dong, H.; Wang, H.; Tang, C.; Zhang, Y (2013). Effect of elevated CO2 on phosphorus nutrition of phosphate-deficient Arabidopsis thaliana (L.) Heynh under different nitrogen forms. J. Exp. Bot. 2013, 64, 355–367.

Oelkers EH, Valsami-Jones E. (2008) . Phosphate mineral reactivity and global sustainability. Elements 4: 83–87

Ouellette, L. A., Reid, R. W., Blanchard, S. G., Brouwer, C. R. (2018). LinkageMapView-rendering high-resolution linkage and QTL maps. *Bioinformatics* 34, 306–307. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx576

Paez-Garcia, A., Motes, C., Scheible, W.-R., Chen, R., Blancaflor, E., & Monteros, M. (2015). Root Traits and phenotyping Strategies for Plant Improvement. Plants, 4(2), 334–355. https://doi.org/10.3390/PLANTS4020334.

Parfitt, R.L (1989) Phosphate reactions with natural allophone, ferrihydrite and goethite. J Soil Sci 40: 359–369

Pariasca-Tanaka, J., Chin, J. H., Dramé, K. N., Dalid, C., Heuer, S., and Wissuwa,M. (2014). A novel allele of the P-starvation tolerance gene OsPSTOL1 from African rice (Oryza glaberrima steud) and its distribution in the genus Oryza. *Theor. Appl. Genet*. 127, 1387–1398. doi:10.1007/s00122-014-2306-y.

Pariasca-Tanaka, J., Vandamme, E., Mori, A., et al. (2015). Does reducing seed-P concentrations affect seedling vigor and grain yield of rice? Plant Soil. 392, 253–266. doi:10.1007/s11104-015-2460-2

Paterson, A. H., Bowers, J. E., Van de Peer, Y., & Vandepoele, K. (2005). Ancient duplication of cereal genomes. New Phytologist, 165(3), 658–661. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01347.x

Peng, S., Cassman, K. G., Virmani, S. S., Sheehy, J. & Khush, G. S. (1999). Yield potential trends of tropical rice since the release of IR8 and the challenge of increasing rice yield potential. Crop Sci. 39, 1552–-1559.

Peng, S.(2004). Rice yields decline with higher night temperature from global warming. Proc. Natl Acad. Sci. USA 101, 9971–-9975 (2004).

Penot, E., Domas, R., AndriamalalA, H., Hyac, P., Dupin, B., Durand, C.(2011). Rôle et place du riz pluvial dans les exploitations agricoles à Madagascar. Le cas du lac Alaotra et du Vakinankaratra. 31.

Pierzynski, G.M., McDowell, R.W., Sims, J.T. (2005) . Chemistry, cycling, and potential moment of inorganic phosphorus in soils. In JT Sims, AN Sharpley, eds, Phosphorus: Agriculture and the Environment. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Inc., Madison, WI, pp 53–86.

De Bauw, P., Mai, H.T., Schnepf, A., Merckx, R., Smolders, E., Vanderborght, J., .(2020b). A functional–structural model of upland rice root systems reveals the importance of laterals and growing root tips for phosphate uptake from wet and dry soils, *Annals of Botany*, Volume 126, Issue 4, Pages 789–806, https://doi.org/10.1093/aob/mcaa120

Poehlman, J.M and Sleper, D.A. (2005). Breeding Field Crops. Iowa State Press, Ames, IA, pp. 278–299.

Ponnamperuma, F. N. (1972). *The chemistry of submerged soils*. *24*, 29–96.

Pook, T., Mayer, M., Geibel, J., Weigend, S., Cavero, D., Schoen, C. C., Simianer, H. (2020) . Improving Imputation Quality in BEAGLE for Crop and Livestock Data. *G3 Genes Genomes Genomics* 10, 177–188. https://doi.org/10.1534/g3.119.400798

Postma, J.A.; Dathe, A.; Lynch, J.P. (2014). The optimal lateral root branching density for maize depends on nitrogen and phosphorus availability. Plant Physiol. 166, 590–602.

Rabeharisoa, L. (2004). Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferrallitiques de Hautes Terres de Madagascar. Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences Naturelles. Faculté des Sciences-Université d'Antananarivo.

Rabeharisoa, L., Razanakoto, O. R., Razafimanantsoa, M.-P.,Rakotoson, T., Amery, F., & Smolders, E. (2012). Larger bioavailability of soil phosphorus for irrigated rice compared with rainfed rice in Madagascar: Results from a soil and plant survey. *Soil Use and Management*, 28(4), 448–456. https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2012.00444.x

Raboin, L.M. , Ramanantsoanirina, A. , Dzido, J.L. , Andriantsimialona, D. , Tharreau, D. , Radanielina, T. , & Ahmadi, N. (2010, March). Upland (aerobic) rice breeding for the harsh environment of the high plateau of Madagascar . Paper presented at the Second Africa Rice Congress, Bamako, Mali. https://agritrop.cirad.fr/558460/1/document_558460.pdf

Raboin LM, Ramanantsoanirina A, Dzido JL, Frouin J, Radanielina T, Tharreau D, Dusserre J, Ahmadi N, (2013). Création variétale pour la riziculture pluviale d'altitude à Madagascar : bilan de 25 années de sélection. Cah Agric 22 : 450-8. doi : 10.1684/agr.2013.0624

Raboin, L.-M. , Randriambololona, T. , Ramanantsoanirfa, A. , Ahmadi, N. , & Dussere, J. (2014). Upland rice varieties for smallholder farming in the cold conditions in Madagascar's tropical highlands. *Field Crops Research , 169* , 11–20.10.1016/j.fcr.2014.09.006

Radanielina,T.,Ramanantsoanirina,A.,Raboin,L.M.,Frouin,J.,Perrier,X.,Brabant,P.,Ahmadi,N.(2013). The original features of rice (*Oryza sativa* L.) genetic diversity and the importance o fwithin-variety diversity in the highlands of Madagascar build a strong case for in situ conservation. *Genet.Resour*.CropEvol.60, 311–323.

Raghothama, K.G. (1999) .Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 665–693

Ray, D.K., Gerber, J.S., MacDonald, G.K, West, P.C. (2015). Climate variation explains a third of global crop yieldvariability. *Nat Commun* 6:1–9

Rakotoarisoa, N. M., Tsujimoto, Y., & Oo, A. Z. (2020). Dipping rice seedlings in P-enriched slurry increases grain yield and shortens days to heading on P-deficient lowlands in the central highlands of Madagascar. *Field Crop Res*, *254*. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107806

Rakotoarivelo Njaramanana, N., Rahetlah, V., Trap, J., & Autfray, P. (2022). Field arbuscular mycorrhizal inoculation increased plant performance without phosphorus fertilizer supply of four promoted upland rice varieties in Madagascar. Experimental Agriculture, 58, E57. doi:10.1017/S0014479722000527

Rakotoson, T., Holz, M., Wissuwa, M. (2020) .Phosphorus deficiency tolerance in *Oryza sativa*: Root and rhizosphere traits. *Rhizosphere* 14, 100198. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100198

Raminoarison, M., Razafimbelo, T., Rakotoson, T., Becquer, T., Blanchart, E., & Trap, J. (2020). Multiple nutrient limitation of upland rainfed rice in ferralsols: a greenhouse nutrient-omission trial. *Journal of Plant Nutrition*, *43*(2), 270–284. https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1676906.

Ranaivo, H. N., Lam, D. T., Ueda, Y., Pariasca Tanaka, J., Takanashi, H., Ramanankaja, L., Razafimbelo, T., & Wissuwa, M. (2022). QTL mapping for early root and shoot vigor of upland rice (*Oryza sativa* L.) under P deficient field conditions in Japan and Madagascar. *Frontiers in plant science*, *13*, 1017419. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1017419

Razaq, M., Zhang, P., Shen, H-l., Salahuddin. (2017) Influence of nitrogen and phosphorus on the growth and root morphology of Acer mono*. PLoS One* 12:1–13.

Rebouillat J, Dievart A, Verdeil JL et al (2009).Molecular genetics of rice root development. Rice 2(1):15–34.

Rengel, Z. & Marschner, P. Nutrient availability and management in the rhizosphere: exploiting genotypic differences. *New Phytol.* 168, 305–312 (2005).

Reuter, D. J. & Robinson, J. B. (1997). Plant analysis : an interpretation manual. Collingwood, Vic : CSIRO Publishing

Rewald, B.; Ephrath, J.E.; Rachmilevitch, S. A root is a root is a root? Water uptake rates of Citrus root orders. *Plant Cell Environ*. 2011, 34, 33–42.

Rinasoa, S., Nishigaki, T., Rabeharisoa, L., Tsujimoto, Y., & Rakotoson, T. (2022). Organic materials with high P and low C:P ratio improve P availability for lowland rice in highly weathered soils: Pot and incubation experiments #. Journal of Plant Nutrition and Soil Science.

Richardson, A.E., Lynch, J.P., Ryan, P.R., Delhaize,E., Smith, S.E., Harvey, P.R., Ryan, M.H., Veneklaas, E.J., Lambers, H., Oberson, A., Culvenor, R.A., Simpson, R.J. (2011). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and soil*, 349, pp 121-156.

Rose, T.J.; Raymond, C.A. (2020). Seed Phosphorus Effects on Rice Seedling Vigour in Soils Differing in Phosphorus Status. *Agronomy* , *10*, 1919. https://doi.org/10.3390/agronomy10121919

Saito, K., (2014). A screening protocol for developing high-yielding upland rice varieties with superior weed suppressive ability. *Field Crops Res*. 168, 119–125

Saito, K., Vandamme, E., Segda, Z ., Fofana, M ., Ahouanton, K (2015). A Screening Protocol for Vegetative-stage Tolerance to Phosphorus Deficiency in Upland Rice. *Crop Science*, 55(3), 1223–. doi:10.2135/cropsci2014.07.0521

Saito K, Asai H, Zhao D, Laborte AG, Grenier C .(2018). Progress in varietal improvement for increasing upland rice productivity in the tropics. *Plant Prod Sci* 21:145–158

Saito, K ., Vandamme, E ., Johnson ,J.M .(2019) . Yield-limiting macronutrients for rice in sub-Saharan Africa. *Geoderma* 338:546–554C.

Saito, K., Vandamme, E., Johnson, J.-M., Tanaka, A., Senthilkumar, K., Dieng, I., Akakpo, C., Gbaguidi, F., Segda, Z., Bassoro, I., Lamare, D., Gbakatchetche, H., Abera, B. B., Jaiteh, F., Bam, R. K., Dogbe, W., Sékou, K., Rabeson, R.,Kamissoko, N., Tarfa, B. D., Wopereis, M. C. S. (2019). Yield-limiting macronutrients for rice in sub-Saharan Africa. *Geoderma*, 338(2019), 546–554. https://doi.org/10.1016/j. geoderma.2018.11.036

Saengwilai, P.; Tian, X.; Lynch, J.P. (2014). Low crown root number enhances nitrogen acquisition from low-nitrogen soils in maize. *Plant Physiol*. 2014, 166, 581–589.

Sarla N, Swamy BPM (2005) Oryza glaberrima: a source for the improvement of Oryza sativa. Curr Sci 89:955–963

Sharma, N. and F. Razafimanantsoa . (2016) .Madagascar Economic Update (English), http://documents.worldbank.org/curated/en/857891480598522366/Madagascar-economic-update.

Shaw, R., Nguyen, H., Habiba, U., Takeuchi, Y. (2011) . Chapter 1 Overview and Characteristics of Asian Monsoon Drought. In Shaw, R. & Nguyen, H. (Eds.), Droughts in Asian Monsoon Region (pp. 1-24). Bingley: Emerald Group Publishing Limited. https://doi.org/10.1108/S2040-7262(2011)0000008007

Shi, Z., Chang, T.G., Chen, F. et al (2020) Morphological and physiological factors contributing to early vigor in the elite rice cultivar 9, 311. *Sci Rep* 10, 14813. https://doi.org/10.1038/s41598-020-71913-y

Shimizu, A., Yanagihara, S., Kawasaki, S., and Ikehashi, H. (2004). Phosphorus deficiency-induced root elongation and its QTL in rice (Oryza sativa L.). *Theor.Appl. Genet*. 109, 1361–1368. doi: 10.1007/s00122-004-1751-4.

Swamy, H. K. M., Anila, M., Kale, R. R. (2020) . Marker assisted improvement of low soil phosphorus tolerance in the bacterial blight resistant, fine-grain type rice variety, Improved Samba Mahsuri. *Sci Rep*. 10, 21143. doi:10.1038/s41598-020-78186-5

Sweeney, M., & McCouch, S. (2007). The complex history of the domestication of rice. *Annals of botany*, *100*(5), 951–957. https://doi.org/10.1093/aob/mcm128.

Tadano, T., Sakai H. (1991). Secretion of acid phosphatase by the roots of several crop species under phosphorus-deficient conditions. *Soil Sci Plant Nutr* 37:129–140

Tanaka, N., Kato, M., Tomioka, R., Kurata, R., Fukao, Y., Aoyama, T., Maeshima, M. (2014). Characteristics of a root hair-less line of Arabidopsis thaliana under physiological stresses. J. Exp. Bot. 65, 1497 1512.

Tigchelaar, M., Battisti, D.S ., Naylor RL., Ray, D.K. (2018). Future warming increases probability of globally synchronized maize production shocks. *Proc Natl Acad Sci* .U S A 115:6644–6649.

Toyofuku, K., Matsunami, M., Ogawa, A. (2015). Genotypic variation in osmotic stress tolerance among rice cultivars and its association with L-type lateral root development. *Plant Prod. Sci*.18, 246–253

Tsujimoto, Y., Rakotoson, T., Tanaka, A., Saito, K. (2019) . Challenges and opportunities for improving N use efficiency for rice production in sub-Saharan Africa. *Plant Prod. Sci*. 22, 413–427. doi: 10.1080/1343943X.2019.1617638

Turner BL, Leytem AB .(2004). Phosphorus compounds in sequential extracts of animal manures: chemical

speciation and a novel fractionation procedure. *Environ Sci Technol* 38: 6101–6108.

Turner, B.L., Richardson, A.E., Mullaney, E,J .(2007) .Inositol Phosphates: Linking Agriculture and the Environment. *CAB International, Wallingford*, UK, p 304

Utz, H. F., Melchinger, A.E. (1996) PLABQTL: A program for composite interval mapping of QTL. *J. Quant Trait Loci* 2, 1.

Van Oort, P. A. J., Saito, K., Tanaka, A., Amovin-Assagba, E., Van Bussel, L. G. J., van Wart, J., de Groot, H., van Ittersum, M. K., Cassman, K. G., Wopereis, M. C. S. (2015) Assesment of rice self-sufficiency in 2025 in eight African countries. *Glob. Food Sec.* 5, 39-49. https://doi.org/10.1016/j.gfs.2015.01.002

Vance, C. P., Uhde-Stone, C. & Allan, D. L. (2003). Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plantsfor securing a nonrenewable resource. New Phytol. 157, 423–447

Vandamme, E. , Rose, T. , Saito, K. , Jeong, K. , & Wissuwa, M. (2016a). Integration of P acquisition efficiency, P utilization efficiency and low grain P concentrations into P-efficient rice genotypes for specific target environments. *Nutrient Cycling in Agroecosystems , 104* , 413–427.10.1007/s10705-015-9716-3

Vandamme, E. , Wissuwa, M. , Rose, T. , Dieng, I. , Drame, K.N. , Fofana, M. ,Saito, K. (2016b). Genotypic variation in grain P loading across diverse rice growing environments and implications for field P balances. *Frontiers in Plant Science , 7* , 1435.

Wang X, Shen J, Liao H (2010) Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops? Plant Sci 179:302–306

Wassmann, R., Jagadish, S. V. K., Heuer, S., Ismail, A., Redona, E., Serraj, R., et al. (2009). Climate change affecting rice production: the physiological and agronomic basis for possible adaptation strategies. Adv. Agron. 101, 59–122. doi: 10.1016/S0065-2113(08)00802-X

Wei, X., & Huang, X. (2019). 1 - Origin, taxonomy, and phylogenetics of rice. In J. Bao (Ed.), *Rice (Fourth Edition)* (pp. 1–29). AACC International Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811508-4.00001-0.

Vijay, D and Bidhan, R. (2013). Rice (Oryza sativa L.).

Wambugu, P.W., Furtado, A., Waters, D.L, Nyamongo, D.O, Henry, R.J. (2013). Conservation and utilization of African Oryza genetic resources. Rice. https://doi.org/ 10.1186/1939-8433-6-29.

WARDA (1997) West Africa rice development association. Annual report 1996. Mbé, Côte d'Ivoire

WARDA. 2001 NERICA rice for life. Bouake 01, Cote d'Ivoire, pp:8 http://www.warda.cgiar.org/Publications/Nerica8.pdf

Wissuwa, M., Yano, M., and Ae, N. (1998). Mapping of QTLs for phosphorus deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa L.*). *Theor. Appl. Genet*. 97, 777–783.doi: 10.1007/s001220050955

Wissuwa, M and Ae N . (2001). Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the

potential for its exploitation in rice improvement. Plant Breed 120:43–48.

Wissuwa, M., Wegner, J., Ae, N., Yano, M. (2002). Substitution mapping of Pup1: A major QTL increasing phosphorus uptake of rice from a phosphorus-deficient soil. Theor Appl Genet 105, 890–897.

Wissuwa, M. (2005) .Combining a modelling with a genetic approach in establishing associations between genetic and physiological effects in relation to phosphorus uptake. Plant and Soil, 269(1), 57–68. Available from: https://doi.org/10.1007/s11104-004-2026-1.

Wissuwa, M., Kondo, K., Fukuda, T., Mori, .A, Rose, M.T., Pariasca-Tanaka, J . (2015). Unmasking novel loci for internal phosphorus utilization efficiency in rice germplasm through genome-wide association analysis. *PLoS ONE*. 10(4):e0124215. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124215 PMID: 25923470

Wissuwa, M., Gonzalez, D. & Watts-Williams, S. J. (2020) . The contribution of plant traits and soil microbes to phosphorus uptake from low- phosphorus soil in upland rice varieties. Plant and Soil, 448(1), 523–537. Available from: https://doi.org/10.1007/s11104-020- 04453-z

White, P.J.; Veneklaas, E.J. (2012). Nature and nurture: The importance of seed phosphorus content. Plant Soil, 357, 1–8.

Xiurong Wang; Jianbo Shen; Hong Liao . (2010). Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops?. , 179(4), 0–306. doi:10.1016/j.plantsci.2010.06.007.

Yamauchi, A., Kono, Y., Tatsumi, J . (1987) .Quantitative analysis on root system structures of upland rice and maize. JPN J Crop Sci 56:608–617.

York, L.M.; Galindo-Castaneda, T.; Schussler, J.R.; Lynch, J.P. (2015). Evolution of US maize (Zea mays L.) root architectural and anatomical phenes over the past 100 years corresponds to increased tolerance of nitrogen stress. J. Exp. Bot. doi:10.1093/jxb/erv074.

Yoshida, S., Forno, D. A., Cock, J. H., Gomez, K. A. (1972). Laboratory manual for physiological studies of rice. *International Rice Research Institute* 2nd edn, 1–70.

Yu, S., Ali, J., Zhang, C . (2020). Genomic breeding of green super rice varieties and their deployment in Asia and Africa. *Theor Appl Genet* 133:1427–1442.

Zhang, H. and Forde, B. (1998). An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science, 279,* 407 – 409.

Zhang, H., Jennings, A., Barlow, P.W. and Forde, B.G. (1999). Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. *Proceeding of the National Academy of Sciences, 96,* 6529 – 6534.

Zhu, J.; Kaeppler, S.M.; Lynch, J.P. (2006) Topsoil foraging and phosphorus acquisition efficiency in maize (Zea mays). *Funct. Plant Biol. Price*, G. Australian Soil Fertility Manual; Fertilizer Industry Federation of Australia, Inc. & CSIRO: Collingwood, Australia.

ANNEXES

Annexe 1: Liste et description des variétés homologuées par FOFIFA-CIRAD au niveau des hautes terres de Madagascar

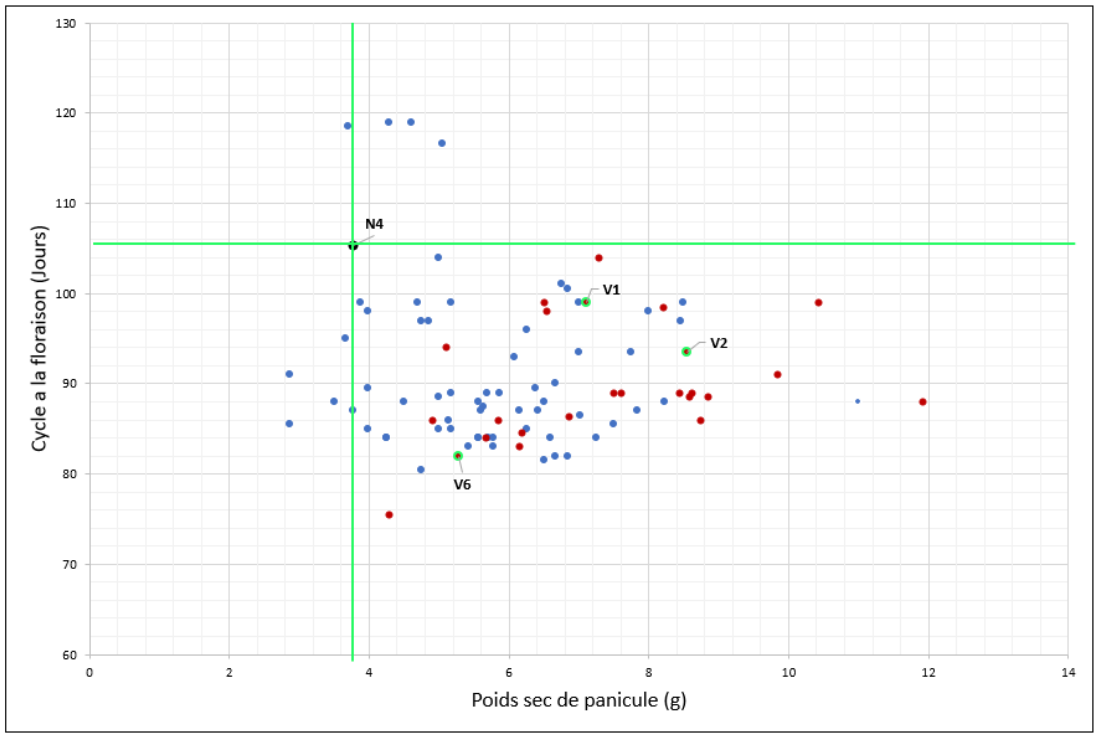
Name	Released	Blast reaction[a]	Female parent	Male parent
FOFIFA 133/F133	1994	HS	Latsidahy	FOFIFA 62
FOFIFA 134/F134	1994	HS	Latsidahy	FOFIFA 62
FOFIFA 151/F151	1995	T	Latsidahy	Shin Ei
FOFIFA 152/F152	1995	HS	Latsidahy	FOFIFA 62
FOFIFA 153/F153	1995	HS	Latsibavy	Daniela
FOFIFA 154/F154	1995	HS	Latsibavy	FOFIFA 62
FOFIFA 157/F157	2000	S	Latsidahy	FOFIFA 62
FOFIFA 158/F158	2000	HS	FOFIFA 62	Shin Ei
FOFIFA 159/F159	2000	S	IRAT 114	FOFIFA 133
FOFIFA 161/F161	2003	S	IRAT 114	FOFIFA 133
FOFIFA 167/F167	2005	T	CA 148	Shin Ei
FOFIFA 168/F168	2005	S	Latsidahy	FOFIFA 62
FOFIFA 169/F169	2005	HS	Pratao Precoce	Daniela
FOFIFA 171/F171	2006	T	Chhomrong Dhan	SLIP 48-M-1[b]
FOFIFA 172/F172	2006	R	IRAT 265	Jumli Marshi
Chhomrong Dhan/CD	2006	T	Nepalese landrace	
FOFIFA 173/F 173	2012	T	Chhomrong Dhan	Unknown
SCRID 6-2-4-2-3	Elite	T	Chhomrong Dhan	Unknown
SCRID 186-32-2	Elite	T	FOFIFA 172	Chhomrong Dhan
SCRID 198-15-2	Elite	T	Chhomrong Dhan	FOFIFA 172

[a] Blast reaction: HS = highly susceptible; S = susceptible; T = tolerant; R = resistant.

Annexe 2 : Quelques caractéristiques des 18 variétés de riz NERICA de plateau homologuées ou adoptées dans certains pays d'Afrique subsaharienne

Nom	Pedigree	Maturation (en jours)	Rendement Potentiel (t/ha)
NERICA1	WAB 450-I-B-P-38-HB	95–100	4,5
NERICA2	WAB 450-11-1-P31-1-HB	90–95	4,0
NERICA3	WAB 450-I-B-P-28-HB	95–100	4,5
NERICA4	WAB 450-I-B-P-91- HB	95–100	5,0
NERICA5	WAB 450-11-1-1-P24-HB	95–100	4,0
NERICA6	WAB 450-I-B-P-160-HB	95–100	5,0
NERICA7	WAB 450-I-B-P-20-HB	95–100	5,0
NERICA8	WAB 450-1-BL1-136-HB	75–85	5,0
NERICA9	WAB 450-B-136-HB	75–85	5,0
NERICA10	WAB 450-11-1-1-P41-HB	90–100	6,0
NERICA11	WAB 450-16-2-BL2-DV1	75–85	7,0
NERICA12	WAB 880-1-38-20-17-P1-HB	90–100	5,5
NERICA13	WAB 880-1-38-20-28-P1HB	90–100	6,0
NERICA14	WAB 880-1-32-1-2-P1-HB	75–85	5,0
NERICA15	WAB 881-10-37-18-3-P1-HB	90–100	5,0
NERICA16	WAB 881-10-37-18-9-P1-HB	90–100	6,0
NERICA17	WAB 881-10-37-18-13-P1-HB	90–100	6,5
NERICA18	WAB 881-10-37-18-12-P3-HB	90–100	5,0

Annexe 3 : Sélection des variétés plus performantes que le parents et les variétés témoins (2018-2019)



Annexe 4 : Résultats sur l'ANOVA, essai de rendement sur les sites AT1 et AZ (Traitement Zéro)

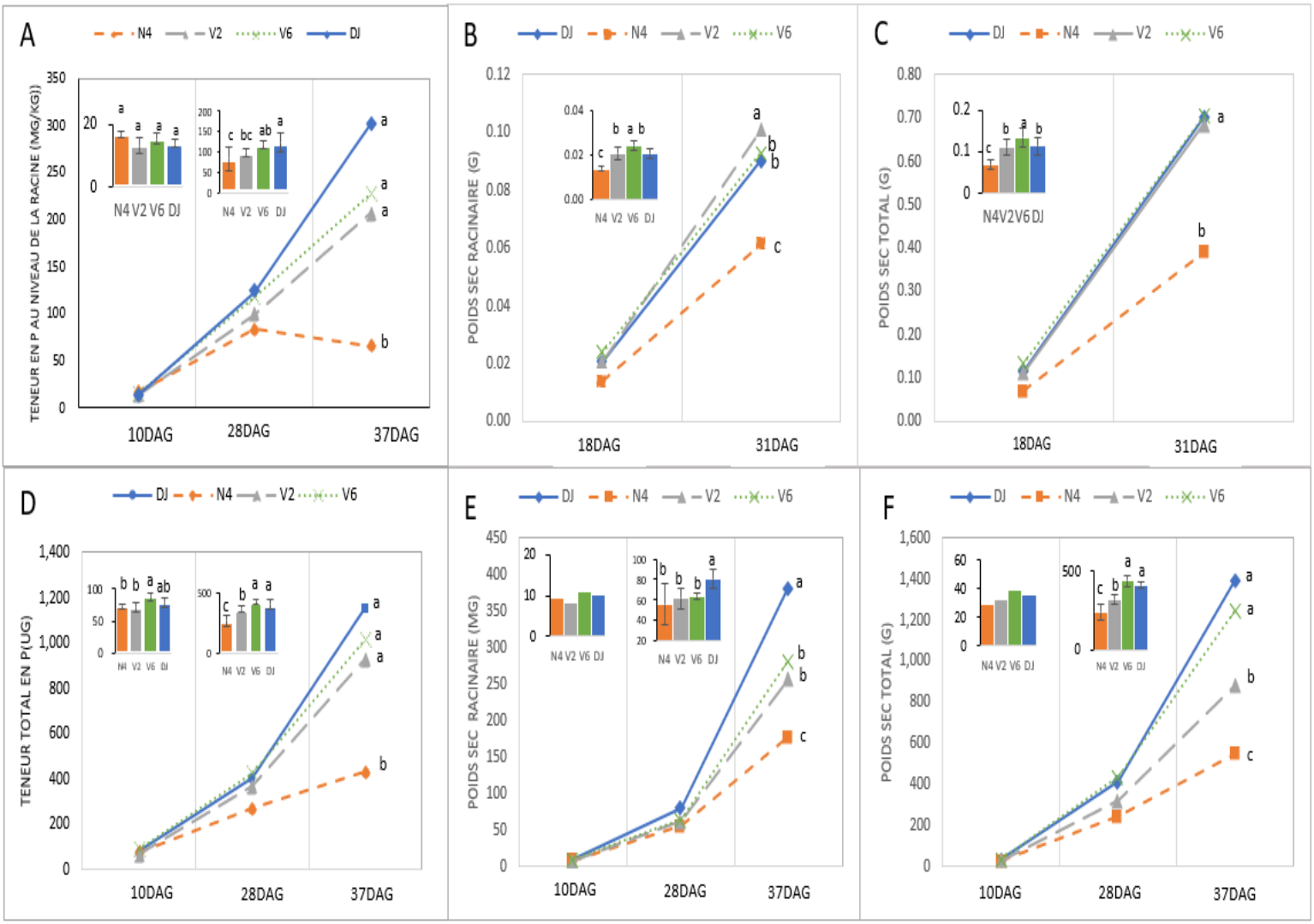
Variétés	Mean	HSD
V2	6.8316	A
V6	6.5367	A
V1	5.5133	AB
N4	4.8077	B

PDW	DF	SS	MS	F	P
Variétés	3	2.28	0.76	4.66	0.0056
Traitement	3	2.37	0.79	4.86	0.0045
Var*Traitement	**9**	**3.85**	**0.42**	**2.63**	**0.0131**

CAF	DF	SS	MS	F	P
Variétés	3	2245.65	748.551	140.65	0.0000
site	3	680.28	226.760	42.61	0.0000
Var*site	**9**	**438.05**	**48.672**	**9.15**	**0.0000**

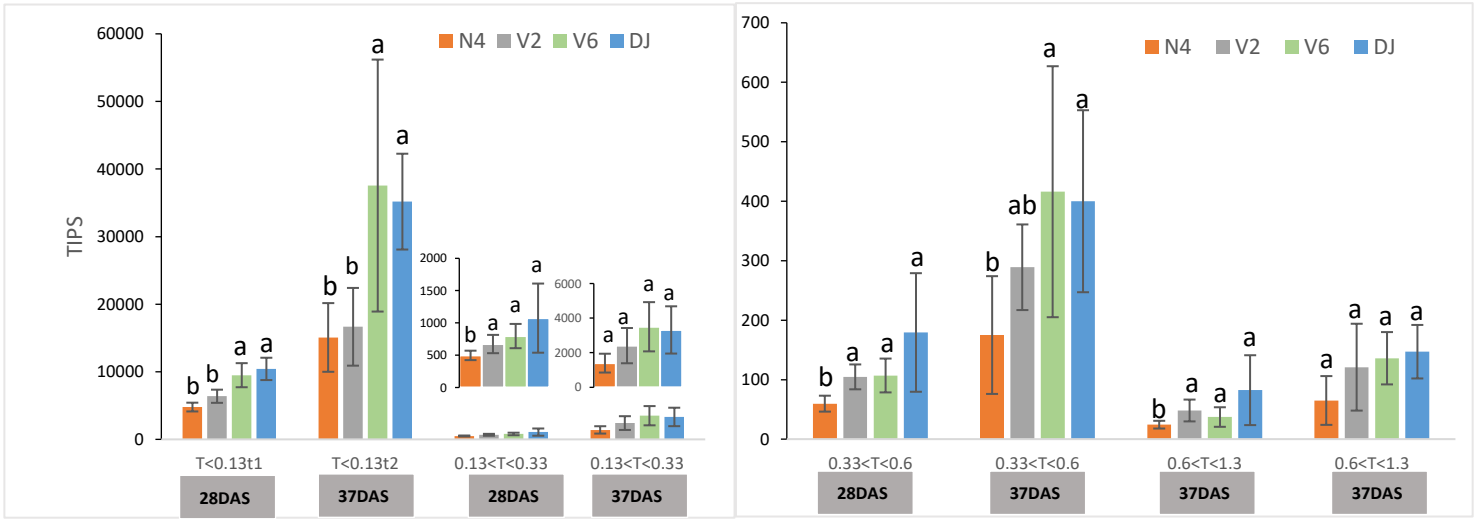
Annexe 5: Evolution du poids sec total et racinaire et de la teneur en P par plante des 4 variétés, N4, V2, V6 et DJ123 suivant le nombre de jours après germination (DAG).

(A) : Teneur en P au niveau de la racine, suivant trois dates d'échantillonnage, **expérimentation en pot** .(B) : Poids sec racinaire par plante de quatre variétés sur deux dates de prélèvements, dont 18DAG et 31DAG, **expérimentation au champ** (C) : Poids sec total par plante de quatre variétés sur deux dates de prélèvements, dont 18DAG et 31DAG, **expérimentation au champ**. (D) : Evolution de la teneur en P totale des 4 variétés, suivant trois dates d'échantillonnage, **expérimentation en pot**. (E) : Poids sec racinaire par plante de quatre variétés sur trois dates de prélèvements, dont 10DAG,28DAG et31DAG, **expérimentation en pot.** (F) : Poids sec total par plante de quatre variétés sur trois dates de prélèvements, dont 10DAG, 28DAG et 37DAG, **expérimentation en pot**. ANOVA, test de Tukey (alpha=0.05).

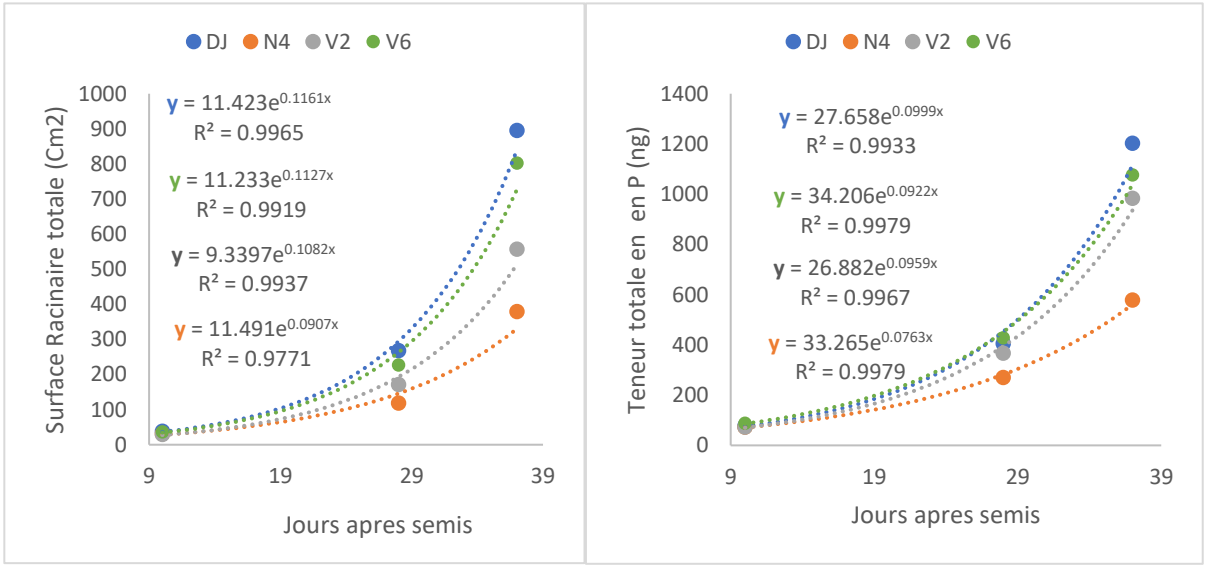


Annexe 6 : Répartition des TIPS des 4 variétés N4, V2, V6 et DJ123 selon la taille des racines.

(A) Comparaison TIPS selon les 2 premières classes regroupant la classe des racines fines, suivant deux dates de prélèvement, 28 et 37 jours après semis (DAS). (B) Comparaison TIPS , selon les 2 premières classes regroupant, suivant les CR deux dates de prélèvement, 28 et 37 jours après semis (DAS)



Annexe 7 : Courbe de tendance sur l'évolution journalière de RSA et RE, expérimentation en pot.



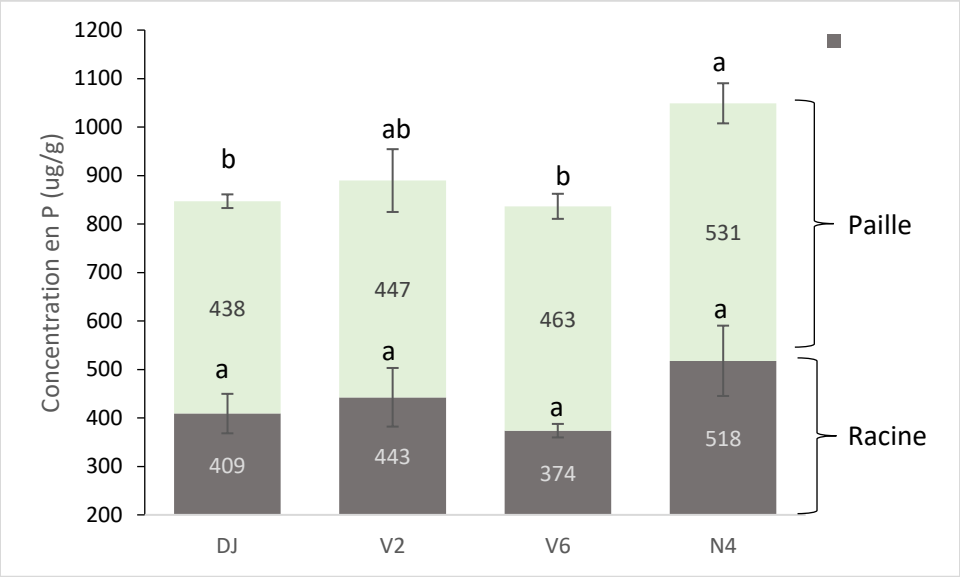
Annexe 8: ANOVA sur l'acquisition de P Et efficience racinaire

Acquisition de P et efficience racinaire des 4 variétés suivant 28DAS (T1) et 37 DAS (T2). Pup-T1 (en ng ou nanogrammes) indique la quantité totale (racine et paille) de P acquis par la variété en 28DAS, c'est-à-dire, la différence de la teneur totale en P ou Pc en 28DAS (T1) et en 10DAS (T0). Pup-T2 = Pc en 37DAS-Pc en 28DAS. RE-T1 ou efficience racinaire en T1 = Pup-T1/RSA-T1*1000 (ng/Cm^2). Selon l'analyse statistique ANOVA, la présence de * indique une différence significative entre les variétés, pour chaque trait, avec (*) : P<0.05, (**) : P<0.001, (***) : P<0.0001 ; tandis que ns indique une différence non-significative entre les variétés. Apres ANOVA, un test de Tukey a été fait, ou les variétés appartenant au même groupe a et ou b n'ont pas de différences significatives entre elles (seuil de significativité = 0.05)

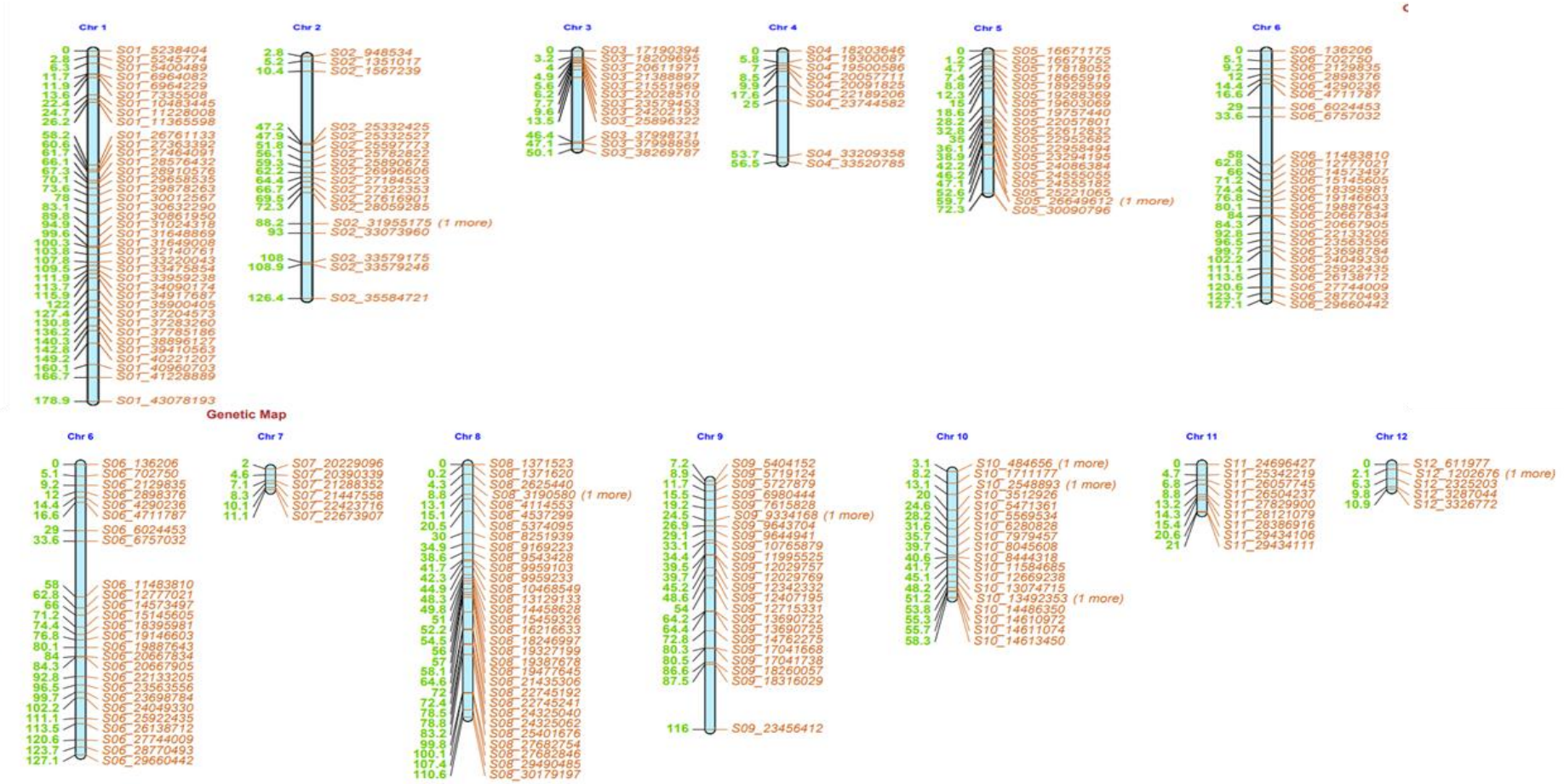
		Pup-T1		Pup-T2		RE-T1		RE-T2	
Variétés	N	***	SD	**	SD	***	SD	ns	SD
DJ	12	365 ab	41.1	887 a	255	478 b	43.5	794 a	280
N4	12	238 c	43.3	341 b	120	516 b	91.8	554 a	294
V2	12	337 b	24.2	680 ab	389	644 a	46.7	798 a	419
V6	12	390 a	15.6	685 ab	235	626 a	60.0	798 a	354

Annexe 9 : Variation de la concentration en P au niveau de la paille et de la racine

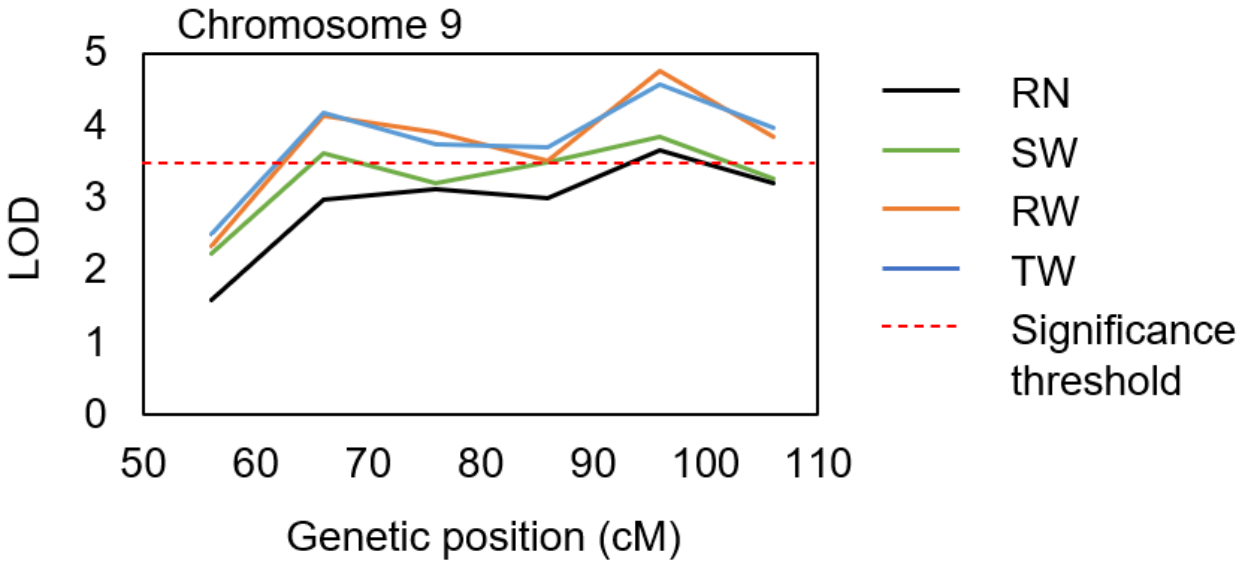
Les barres ne partageant pas de lettre(s) identique(s) sont significativement différentes les unes des autres (test HSD, P ≤ 0,05).



Annexe 10 (Suppl.Fig. S1) : Linkage map based on 222 SNP markers in the BC1F3 population derived from a backcross of NDJ188 to recurrent parent Nerica4. Genetic distance and name for each marker are shown.



Annexe 11 (Suppl.Fig. S2) : LOD peak curves for QTL detected on chromosome 9 for traits RN, RW, SW, TW based on the analysis conducted in PLABQTL



Annexe 12 (**Suppl.Tab.S1**): Pearson's correlation coefficient for traits RN, RW, SW and TW (n = 201).

	RN	RW	SW
RW	0.49		
SW	0.56	0.75	
TW	0.57	0.88	0.96

Correlations were highly significant with P values of 8.1×10^{-13} for RN and RW and $<1.0 \times 10^{-15}$ for the remaining traits.

Annexe 13 (Suppl.Tab.S2): Two-way interaction between the two QTL identified for RN in the BC1F3 population.

Root number		***qRNO8****		
		AA	**BB**	**avg**
qPef9*	**AA**	**10.3^{a}**	**9.3^{b}**	**9.9**
	n	27	35	88
	BB	**9.5^{ab}**	**9.2^{b}**	**9.2**
	n	15	27	67
	avg	**9.9**	**9.1**	
	n	67	86	

Asterisk (*) indicates significant differences between AA and BB allele at each locus (Welch's *t* test, significance level = 5%).

Two-way ANOVA was conducted to compare the values of AAAA, AABB, BBAA and BBBB (Tukey Test, significance level=5%), and the result is indicated by small case letters. Different letters indicate significant differences.

Annexe 14: (Suppl.Tab S3) Two-way interaction between the two QTL identified for RW in the BC1F3 population

Root weight (mg plant^{-1})		***qRNO2****		
		AA	**BB**	avg
qPef9*	**AA**	**195^{a}**	**206^{a}**	**200**
	n	34	35	88
	BB	**158^{b}**	**199^{a}**	**177**
	n	21	26	67
	avg	**183**	**208**	
	n	72	67	

Asterisk (*) indicates significant differences between AA and BB allele at each locus (Welch's *t* test, significance level = 5%).

Two-way ANOVA was conducted to compare the values of AAAA, AABB, BBAA and BBBB (Tukey Test, significance level=5%), and the result is indicated by small case letters. Different letters indicate significant differences.

Annexe 15 (Supp.Tab S4) : Two-way interaction between the three QTL identified for shoot and total biomass in the BC1F3 population

Shoot weight (mg plant-1)		***qPef6****		***qPef1****	
		AA	**BB**	**AA**	**BB**
qPef9-2*	**AA**	**42.7^{a}**	**37.5^{b}**	**414^{a}**	**387^{a}**
	n	31	27	58	12
	BB	**370^{b}**	**349^{b}**	**387^{a}**	**310^{b}**
	n	26	24	38	34
	avg	**415**	**354**	**402**	**340**
	n	79	68	118	34
Total weight (mg plant-1)		***qPef6****		***qPef1***	
		AA	**BB**	**AA**	**BB**
qPef9*	**AA**	**645^{a}**	**553^{b}**	**61.3^{a}**	**594^{a}**
	n	27	22	59	13
	BB	**550^{b}**	**525^{b}**	**569^{a}**	**480^{b}**
	n	35	15	38	14
	avg	**611**	**534**	**594**	**520**
	n	79	68	118	35

Asterisk (*) indicates significant differences between AA and BB allele at each locus (Welch's *t* test, significance level = 5%).

Two-way ANOVA was conducted to compare the values of AAAA, AABB, BBAA and BBBB (Tukey Test, significance level=5%), and the result is indicated by small case letters. Different letters indicate significant differences.

Annexe 16 (**Suppl.Table S5):** Marker alignment for BC1F3 and BC1F5 generations for the QTL identified on chromosome 9. The alignment used the Nipponbare reference genome, whereas initial marker detection was based on sequence alignments with an in-house DJ123 genome assembly (BC1F3) or the publicly available Azucena genome assembly (BC1F5).

QTL	BC1F3 Flanking markers	Nipponbare position (bp) corresponding to BC1F3 marker	BC1F5 SNP markers
qPef9-2	S09_9644941	9,199,149	S09_8622755
	S09_10765879	10,282,846	S09_9657215
			S09_10077269
			S09_10303624
			S09_10545310
			S09_11211744
qPef9	S09_12715331	11,986,909	S09_12016328
	S09_13690722	12,924,103	S09_12680056
			S09_13090502