

Phytologie

Chapitre 13

De l'épidémiologie classique à l'épidémiologie moléculaire : reconstitution de la biogéographie du virus de la panachure jaune du riz en Afrique

D. FARGETTE^(a), G. KONATE^(b), E. HEBRARD^(a) et O. TRAORE^(b)

- 1. Introduction 458
- 2. Les acquis de l'épidémiologie « classique » 459
- 3. Des questions sans réponse 462
- 4. Les apports de l'épidémiologie moléculaire 465
- 5. Conclusion 471

^a UMR 186 Résistance des plantes aux bioagresseurs, Centre IRD de Montpellier, Montpellier, France.

^b Institut de l'Environnement et des Recherches Agricoles, Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique, Burkina-Faso.

1. Introduction

Les épidémies virales causent des dégâts considérables aux cultures vivrières et industrielles. Elles sont particulièrement dommageables dans les régions tropicales où les populations dépendent étroitement de la production agricole pour leur alimentation et leurs revenus. L'objectif des travaux d'épidémiologie est d'établir les relations entre l'agent causal de la maladie, ses vecteurs, ses réservoirs et l'environnement. La connaissance des facteurs climatiques et agro-écologiques qui régulent les épidémies facilite la définition de stratégies de contrôle de la maladie : gestion de la résistance variétale, mesures prophylactiques, contrôle du vecteur, pratiques agronomiques, etc.

Dans ce chapitre, nous soulignons la complexité des travaux d'épidémiologie, en raison notamment de la multiplicité des « acteurs ». La hiérarchisation et la combinaison des facteurs déclenchant ou régulant les épidémies est difficile, parfois même impossible, à établir. D'où la difficulté à répondre à des questions épidémiologiques, souvent apparemment simples, et à définir des méthodes de lutte durables. Nous montrerons en quoi l'épidémiologie moléculaire (dont les différentes facettes font l'objet d'autres chapitres dans cet ouvrage), complémentaire de l'épidémiologie classique, permet de comprendre et, à terme, de contrôler les maladies virales des plantes. Nous illustrerons notre propos avec la panachure jaune du riz en Afrique. L'épidémiologie de cette maladie a fait l'objet d'études détaillées menées sur la durée par des équipes expérimentées. Les méthodes utilisées sont variées. Elles regroupent observations et expérimentations : identification des vecteurs et des réservoirs, fluctuations spatio-temporelles de la maladie, rôle de pratiques culturales, relevés climatiques. Ces études expérimentales ont abouti à une connaissance approfondie de l'épidémiologie de la panachure jaune du riz que nous décrivons dans la première partie de ce chapitre. Dans une seconde partie, nous montrerons que la complexité de l'épidémiologie de la panachure est telle que des questions essentielles – les causes de l'émergence de la maladie, les capacités de transmission, les changements d'hôtes – échappent encore à l'approche dite « classique ». Dans une troisième partie, nous expliquerons en quoi l'épidémiologie moléculaire – fondée sur une démarche fondamentalement différente qui consiste en l'analyse de la diversité moléculaire – apporte des réponses à ces questions importantes. Elle donne aussi des informations sur le centre d'origine, le mode et le tempo de dispersion, les capacités d'adaptation. En ce sens, l'épidémiologie moléculaire complète et renouvelle l'épidémiologie plus traditionnelle.

L'épidémiologie moléculaire repose sur l'analyse de la diversité génétique intraspécifique du virus (cf. Chapitres 8 et 9). Or de nombreux virus de plantes s'avè-

rent très peu variables en dépit d'un large échantillonnage (lieux, dates et hôtes différents). Faute de diversité, de tels virus ne pourront naturellement pas faire l'objet d'études d'épidémiologie moléculaire. La mise en évidence d'une diversité est nécessaire mais n'est cependant pas suffisante. En effet, lorsque la diversité est trop élevée, elle est difficile à analyser et/ou n'est pas interprétable. Le problème est peu contraignant au niveau intra-spécifique où la diversité nucléotidique est limitée (souvent de l'ordre de 15%). En revanche, cette **diversité** est souvent peu informative (pas de relation entre diversité et région, année, hôte, vecteur, etc.). Il faut alors émettre l'hypothèse de transports à longue distance et/ou de phénomènes de recombinaison qui sont le plus souvent non testables.

À cet égard, le *Rice yellow mottle virus* (RYMV), agent responsable de la pathologie dite de la panachure jaune du virus, peut être considéré comme un virus modèle en écologie moléculaire. En effet, le RYMV présente le triple intérêt de présenter une diversité moléculaire à la fois suffisamment étendue pour faire l'objet d'analyses et suffisamment modérée pour être informative.

2. Les acquis de l'épidémiologie « classique »

2.1 Historique de la panachure jaune du riz

Le riz est une culture d'importance croissante en Afrique, notamment depuis les années 1970, en raison de l'expansion démographique et de l'urbanisation rapide du continent. La panachure a atteint un stade épidémique lors de la phase d'intensification de la culture du riz. Observée pour la première fois en 1966 au Kenya, elle est maintenant rapportée dans la quasi-totalité des pays d'Afrique où le riz est cultivé. On la trouve en forêt, en savane arborée, arbustive, herbeuse, ou d'altitude, et dans les zones de mangroves. D'abord observée dans les grands périmètres de riz irrigué, elle est présente en riz de bas-fonds et en riz pluvial. La panachure est à l'origine de graves épidémies. Elle est maintenant considérée comme la principale contrainte biotique de la culture du riz sur le continent africain.

2.2 Le virus de la panachure jaune du riz

Le virus de la panachure jaune du riz est l'agent causal de la maladie. Le RYMV est un **virus icosaédrique** à ARN appartenant au genre des *Sobémovirus* dont l'organisation génomique et la séquence entière sont connues. La gamme d'hôte

du virus est restreinte aux deux espèces de riz cultivé (*Oryza sativa* et *O. glaberrima*), à plusieurs espèces de riz sauvage (notamment *O. longistaminata*, **adventice** fréquente), et à quelques rares autres graminées sauvages. Si l'**étiologie** de la maladie et la gamme d'hôtes du virus sont bien connues, l'identification des vecteurs est une tâche encore inachevée. Il a d'abord été montré que le RYMV était transmis par plusieurs espèces de coléoptères (notamment de la famille des *Chrysomelidae*). Le virus est acquis par le coléoptère lors de son alimentation sur une plante malade, puis transmis par l'insecte vecteur à des plantes saines. Le mécanisme de la transmission n'a pas été élucidé, mais on sait cependant que la rétention du RYMV chez le coléoptère ne dépasse pas quelques jours. La propagation par d'autres insectes, notamment par des insectes orthoptères, a été suggérée, sans jamais être réellement démontrée (Abo et coll. 2000). Récemment, la transmission par des rongeurs (rats) et par des mammifères (vaches, chèvres) a été établie (Sarra et coll. 2004). Plusieurs études ont montré qu'il n'y a pas de transmission du virus par la graine, ni chez le riz cultivé, ni chez les hôtes sauvages du virus (Konaté et coll. 1997).

2.3 Transmission du virus de la panachure jaune du riz

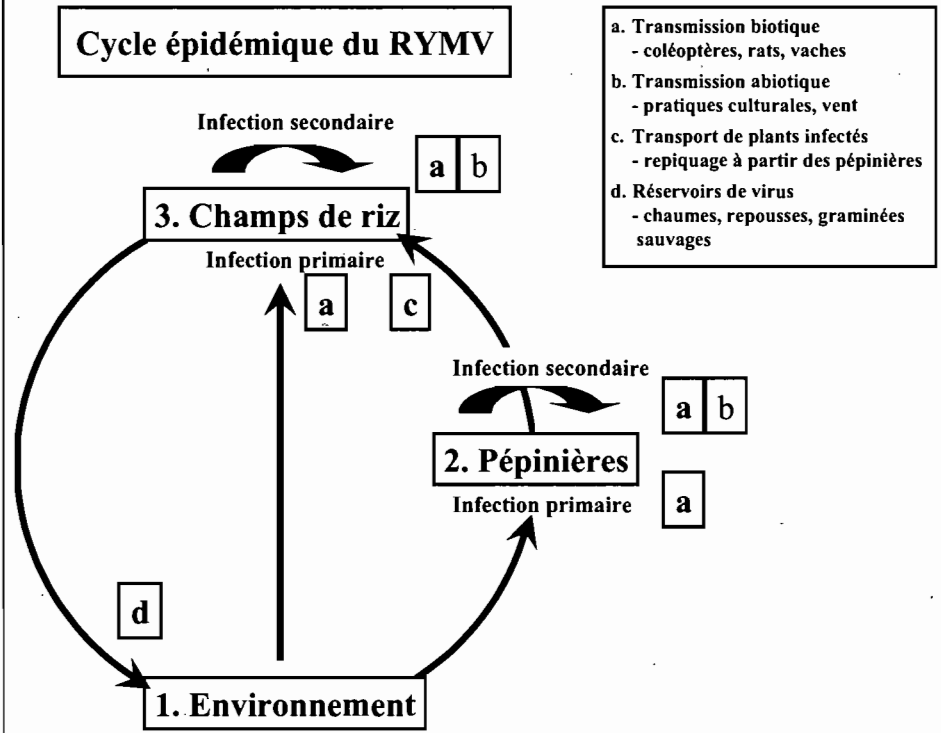
Expérimentalement, il est connu que le RYMV peut être transmis aisément de plante à plante par frottement (Traoré et coll. 2006). Ce n'est que récemment que les conséquences épidémiologiques de la transmission par contact ont été appréciées (Fargette et coll. 2006). Tout d'abord, il a été montré que le frottement de feuille à feuille dans les champs, sous l'action du vent notamment, permettait la transmission du virus. Le rôle clé des pratiques culturales lors du repiquage a été démontré. Le riz est le plus souvent planté dans les rizières après repiquage de jeunes plants cultivés dans des pépinières. La forte densité de plantes à un stade jeune et sensible est favorable à la transmission du virus par contact entre feuilles. La mise en bottes des plantules, préalable au transfert vers les rizières, favorise ensuite la transmission entre plantes infectées et plantes saines. L'ensemble des résultats acquis aboutit à l'élucidation du cycle épidémique viral que nous présentons sur la figure 13.1.

L'inventaire des modes de transmission, même s'il n'est pas nécessairement complet, est maintenant bien avancé. En revanche, le rôle respectif des différents modes de transmission dans la propagation de la maladie n'est pas établi. Les premières études – à l'heure où le rôle de la transmission abiotique n'était pas encore bien connu – suggéraient que les coléoptères jouaient un rôle déterminant dans le développement des épidémies. Plusieurs travaux ont montré depuis l'absence de corrélation entre la dynamique des populations de coléoptères et l'apparition des

épidémies (Fargette et coll. 2006). Récemment, l'amplification de l'inoculum viral dans les pépinières a été quantifiée à l'issue d'études où le protocole expérimental reproduisait les principales pratiques culturales allant du semis au repiquage. Le rôle majeur des pratiques culturales dans la propagation du virus a ainsi été montré. Mais la validité de ce résultat dans d'autres zones agro-écologiques n'a pas été établie. On ne peut donc pas exclure que la panachure jaune du riz soit transmise préférentiellement par vecteurs dans certaines régions, voire certaines années, et par voie abiotique par l'homme dans d'autres.

FIG. 13.1 | Cycle épidémiologique du RYMV

1) Environnement. Le RYMV est présent dans l'environnement dans les chaumes et les repousses de riz, certaines espèces de Poacées sauvages et des adventices. 2) Pépinières. L'infection primaire est due à la transmission par vecteurs (coléoptères, rats, vaches, etc.), tandis que les pratiques culturales contribuent à l'infection secondaire des pépinières. 3) Champs de riz. L'infection primaire est due à la transmission biotique de l'inoculum présent dans l'environnement, et aussi lors du repiquage de jeunes plants de riz virosés issus des pépinières. Les transmissions biotiques et abiotiques concourent à l'infection secondaire des champs de riz. Après la récolte, le RYMV se maintient en contre-saison dans l'environnement dans les repousses et les chaumes de riz et est transmis aux graminées sauvages réservoirs.



2.4 Contrôle de la panachure jaune du riz

Le contrôle du vecteur par traitement insecticide n'est pas envisageable pour des raisons économiques et écologiques. Il est par ailleurs peu vraisemblable qu'il soit efficace en raison de la multiplicité des modes de transmission, à l'exception peut-être du contrôle dans les pépinières. Les mesures prophylactiques sont importantes pour réduire l'incidence de la maladie. Il a ainsi été rapporté que des pratiques culturales comme l'arrachage des riz sauvages en bordure de rizières et surtout aux abords des pépinières réduisent l'incidence de la maladie (Abo et coll. 2000). Cependant, leur mise en œuvre au-delà du périmètre proche des rizières n'est pas envisageable et leur impact n'est probablement pas suffisant pour réduire significativement l'incidence de la maladie. La lutte contre la panachure jaune du riz repose donc sur l'utilisation de la résistance variétale. Une première étape a été franchie lorsque développeurs et agriculteurs ont été convaincus que la panachure était d'origine virale et ont éliminé les variétés les plus sensibles. Les grandes épidémies qui ont détruit les rizières à l'Office du Niger au Mali à la fin des années 1990 ont ainsi été régulées. Cependant, le problème persiste à moindre intensité dans cette région, mais reste entier dans d'autres. Seule la propagation de variétés hautement résistantes est susceptible d'éliminer la panachure. Or ces **résistances** sont rares, coûteuses à **introgresser** et susceptibles d'être **contournées**. Aussi la résistance au virus de la panachure jaune du riz doit-elle se faire dans le cadre d'une stratégie de **lutte intégrée** afin d'optimiser son utilisation, fondée sur une connaissance approfondie de l'épidémiologie du virus.

3. Des questions sans réponse

3.1 Une épidémiologie encore mal comprise

Les résultats obtenus à l'issue de travaux approfondis par des équipes expérimentées montrent la complexité de l'épidémiologie de la panachure jaune du riz, alors même que les facteurs climatiques n'ont pas été pris en compte. Plusieurs questions restent sans réponse. La panachure, initialement restreinte aux systèmes rizicoles intensifs, est maintenant présente dans tous les systèmes rizicoles (irrigués, bas-fonds, pluviaux) et dans toutes les zones agro-climatiques (forêt, savane, savane d'altitude, zone sahélo-soudanienne, etc.) où le riz est cultivé. On ne connaît pas les raisons de l'extension de la maladie. De même, on ignore les raisons pour lesquelles la maladie survient telle année dans telle région et telle année dans d'autres.

3.2 La panachure jaune, une maladie d'intensification ?

La panachure jaune du riz est souvent qualifiée de maladie d'intensification, car son apparition est concomitante à l'intensification de la culture du riz en Afrique. Mais on ignore la (ou les) cause(s) réelle(s) de l'émergence du virus de la panachure jaune du riz. L'intensification de la culture du riz en Afrique recouvre plusieurs changements agronomiques : introduction de variétés hautement productives mais sensibles à la maladie, recours plus fréquent à l'irrigation, généralisation de deux cycles annuels de culture, forte densité de semis, augmentation générale des surfaces cultivées. Il est difficile, voire impossible, de dissocier de l'ensemble de ces changements culturels ceux qui ont été décisifs dans l'émergence de la maladie. Par exemple, la sensibilité des variétés introduites, d'abord incriminée, a été écartée lorsque des **tests variétaux** ont montré une sensibilité comparable à celle des variétés traditionnelles.

3.3 La panachure jaune, une maladie émergente ?

Les causes de l'émergence de la maladie elle-même ne sont pas comprises. La maladie a été observée pour la première fois en 1966 à l'est du lac Victoria en milieu paysan dans des champs, en bordure d'un grand complexe rizicole qui a été ensuite lui-même rapidement infecté (Bakker 1975). La panachure était donc bien présente avant l'intensification de la culture du riz. Le virus s'est-il propagé ensuite dans le reste de l'Afrique ? Ou bien existait-il déjà dans les champs paysans avant d'infecter les complexes rizicoles proches, nouvellement plantés ? La panachure n'a-t-elle pas été détectée en raison d'une incidence trop faible pour attirer l'attention des spécialistes, ou bien en raison d'une confusion de ses symptômes avec des jaunissements physiologiques ? Selon cette hypothèse, l'intensification de la culture du riz en Afrique aurait seulement agit comme le révélateur de la maladie déjà présente. Si la panachure ne s'est pas propagée à la faveur de l'intensification de la culture du riz, à quand remonte sa propagation ? Est-elle liée à l'histoire du riz en Afrique ou bien à une histoire antérieure ? Quels ont été les facteurs clés de sa propagation ?

Ces questions ont non seulement un intérêt cognitif, mais aussi un intérêt plus pratique en agronomie. Les études épidémiologiques ont montré que la lutte contre la panachure repose sur l'utilisation de la résistance variétale dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée. Ainsi, il faut déterminer les allèles de résistance à déployer dans les différentes régions en fonction de la virulence des souches virales présentes. Il faut connaître le risque de dispersion des souches virulentes dans les rizières. Autant de questions qui relèvent de l'épidémiologie virale. Nous

montrons pourquoi les réponses à ces questions ne peuvent pas être obtenues uniquement par des études «classiques» d'épidémiologie, et comment l'épidémiologie moléculaire peut les aborder.

3.4 Capacités de dispersion de la panachure ?

La capacité de dispersion de la panachure est au cœur des questions aussi fondamentales que l'émergence de la maladie ou la vitesse de dispersion des souches virulentes. Or on ne peut pas évaluer directement la capacité de dispersion de la panachure par des études d'épidémiologie classique. Les principaux modes de propagation du RYMV ont été identifiés grâce aux études détaillées qui ont été menées. On peut ainsi distinguer les modes de propagation sur place, des modes de dispersion à distance. La transmission abiotique permet une multiplication localisée de l'inoculum et une dispersion de quelques kilomètres lors du transport de pousses de riz virosées dans les rizières proches des pépinières dont elles sont issues. La propagation à distance est faite par les insectes vecteurs. Mais quelle en est la portée ? La réponse à une telle question est difficile, voire impossible, même si on se limite aux coléoptères vecteurs (et que l'on ne tienne pas compte du rôle éventuel des orthoptères). On sait que les coléoptères sont de mauvais «voiliers». Cependant, ils peuvent parfois être dispersés sur de longues distances à la faveur de coups de vent violents, voire de cyclones. La propagation du virus va finalement dépendre de ces rares mouvements à grande distance. Par ailleurs, le virus est transmis par les coléoptères vecteurs sur le mode non-persistant. On ignore le temps de rétention du virus dans l'insecte et donc la durée pendant laquelle il pourra être propagé. Enfin, la gamme d'hôtes du RYMV est essentiellement limitée aux riz sauvages et cultivés. La dispersion du virus par le vecteur dépendra aussi de la structure des paysages rizicoles. Elle sera plus rapide dans des régions où la culture du riz est continue (*rice belt* d'Afrique de l'Ouest, pourtour rizicole du lac Victoria, rizières le long du fleuve Niger) que dans les régions où la culture du riz est fragmentée (*yam belt* en Afrique centrale, montagnes en Afrique de l'Est isolant les régions rizicoles).

L'apport d'autres approches épidémiologiques est limité. La distribution spatiale des pieds infectés dans une parcelle peut être interprétée comme une contamination par insecte à partir des réservoirs proches. Mais elle peut aussi être due à des effets de bordure sur le vol des insectes vecteurs. Un suivi précis de la dynamique des populations de coléoptères (ou des expériences de capture-recapture) n'a jamais été réalisé, à cause de son coût tout d'abord, mais aussi en raison du grand nombre d'espèces vectrices potentielles. De toute façon, il serait probablement peu informatif dans les régions où l'essentiel de la propagation se fait par voie abiotique.

Les premières observations de symptômes de panachure ne reflètent pas nécessairement l'émergence et la progression de la maladie (soit inaperçue, soit confondue avec d'autres types de jaunissement dûs à d'autres agents causatifs), mais plutôt un seuil au-dessus duquel l'impact économique de la maladie attire l'attention des agriculteurs, des développeurs et des scientifiques. La présence de virologues dans la région semble décisive. Le RYMV a été observé pour la première fois en 1966 par un virologue néerlandais de l'université agronomique de Wageningen en poste au Kenya. En Afrique de l'Ouest, le RYMV a été détecté au début des années 1970 par des virologues des laboratoires de phytovirologie de l'ORSTOM (aujourd'hui IRD) en Côte d'Ivoire et de l'IITA (*International Institute for Tropical Agriculture*) au Nigeria, créés quelques années plus tôt. La coïncidence entre la détection du RYMV et la mise en place des premiers laboratoires de phytovirologie est frappante. À quand remonterait la première observation du RYMV si ces laboratoires avaient été établis dix ans plus tôt ou dix ans plus tard?

4. Les apports de l'épidémiologie moléculaire

4.1 Épidémiologie phylogénétique et spatiale

a) Analyse de la diversité moléculaire

L'épidémiologie phylogénétique et spatiale repose sur l'analyse de la diversité moléculaire. L'analyse de la diversité du RYMV s'est faite en plusieurs étapes. La diversité sérologique a d'abord été étudiée à l'aide d'une série d'**anticorps monoclonaux**. Ces derniers se sont avérés informatifs car plusieurs **épitopes** dominants sont polymorphes et leurs changements sont congruents avec la phylogénie du virus. L'analyse de la **diversité sérologique** a permis une évaluation rapide et à grande échelle de la diversité virale, et en a fait ressortir les grands traits. Une analyse plus fine, rendue possible par la banalisation des techniques de séquençage, a été réalisée ensuite par séquençage partiel, puis entier, d'isolats représentatifs de la diversité géographique et sérologique. Un travail d'une dizaine d'années d'équipes travaillant en réseau et couvrant les principales zones agro-écologiques d'Afrique, où le virus est présent, a abouti à une bonne connaissance de la diversité virale. Enfin, le développement récent d'outils statistiques d'analyse des séquences performants a permis d'en extraire les principales caractéristiques.

L'analyse sérologique a porté sur plus de 500 échantillons collectés dans 16 pays d'Afrique de l'Ouest, d'Afrique centrale, d'Afrique de l'Est et à Madagascar. Une demi-douzaine d'anticorps monoclonaux discriminants a permis d'établir la pré-

sence de plusieurs **sérotypes**. Cette analyse sérologique a montré une **répartition géographique** de la diversité sérologique à l'échelle du continent et à l'échelle du pays. En effet, les sérotypes d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique de l'Est sont distincts. En Côte d'Ivoire, les isolats du sud du pays ont un sérotype différent de ceux du nord. Les séquences de la protéine de **capside** (720 nucléotides) de plus de 250 isolats ont été obtenues. Elles ont confirmé cette structuration spatiale de la diversité. Elles ont montré aussi que la diversité moléculaire était plus élevée en Afrique de l'Est qu'en Afrique de l'Ouest par le nombre de souches la distance entre souches, et la variabilité intra-souches.

b) Capacité de dispersion du RYMV

La séquence de la capsid, utilisée comme marqueur de dispersion, a servi à évaluer les capacités de transmission du RYMV en étudiant la situation dans les îles de Pemba et de Madagascar. Pemba est une petite île proche de Zanzibar, à une trentaine de kilomètres des côtes de Tanzanie. L'analyse des souches virales présentes dans cette île montre une proximité, voire une similarité, avec celles de la Tanzanie continentale. Ces relations indiquent que le RYMV a été introduit à plusieurs reprises dans l'île de Pemba à partir des côtes tanzaniennes. Le virus peut donc être propagé sur des distances de quelques dizaines de kilomètres. Madagascar est un grand pays rizicole situé à 400 km environ des côtes du Mozambique. L'analyse moléculaire révèle une parenté avec les souches d'Afrique de l'Est et une **diversité nucléotidique** inter-isolats très faible. Ces résultats suggèrent que le virus a été transmis récemment et un nombre très limité de fois, peut-être même en une occasion unique, à partir du continent africain. Le RYMV peut donc être propagé sur des distances de plusieurs centaines de kilomètres, mais de telles transmissions à grande distance restent exceptionnelles. Les paysans et les développeurs malgaches associent d'ailleurs l'arrivée de la maladie au passage d'un cyclone particulièrement violent, peu avant l'apparition de la panachure dans le pays au début des années 1980. Ces résultats montrent comment des travaux d'épidémiologie moléculaire apportent des informations sur les capacités de dispersion du virus, résultats qu'il n'est pas possible d'obtenir en épidémiologie classique.

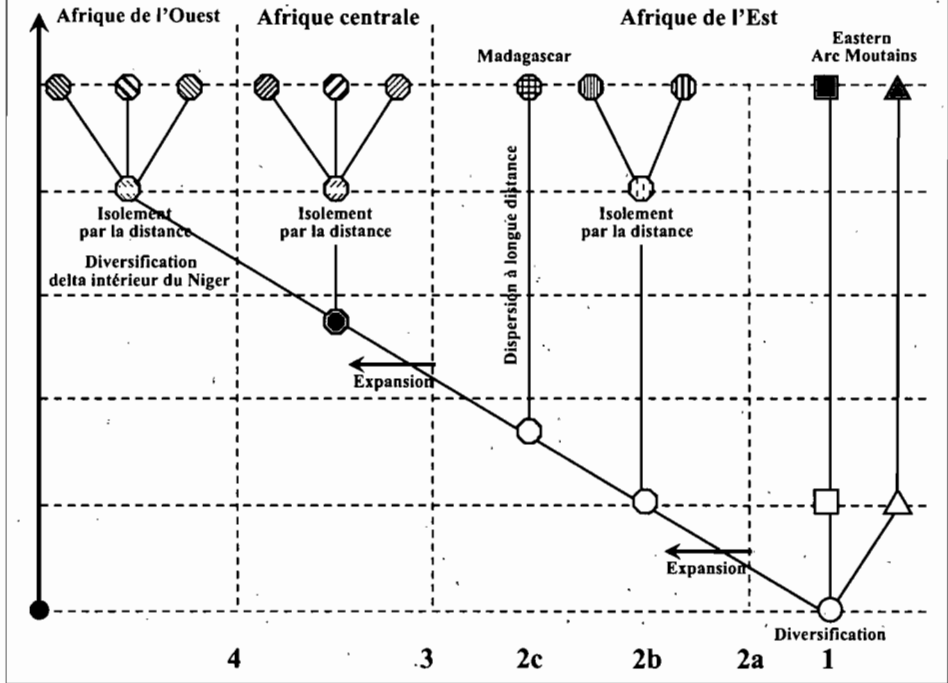
Vingt-quatre isolats représentatifs de la distribution spatiale du RYMV et de sa diversité génétique ont été entièrement séquencés. La reconstruction phylogénétique fait ressortir une topologie asymétrique avec un emboîtement des nœuds de la phylogénie selon un axe géographique est-ouest. Cette topologie particulière et la diminution de la diversité nucléotidique d'est en ouest de l'Afrique suggèrent une diversification initiale du RYMV à l'est du continent, puis une propagation d'est en ouest de l'Afrique (Figure 13.2). Ce scénario s'avère plus parcimonieux que le scénario alternatif d'une diversification initiale

du virus en Afrique centrale, suivi de deux phénomènes de dispersion distincts à l'est et à l'ouest de l'Afrique. La relation entre distance génétique et distance géographique est hautement significative à l'échelle du continent. En revanche, cette relation subit des distorsions marquées à des échelles régionales ou locales. Ainsi la diversification génétique du virus est faible dans les régions où la culture du riz est continue comme le *rice belt* d'Afrique de l'Ouest, le pourtour rizicole du lac Victoria ou encore l'axe fluvial Bénoué-Niger bordé de riz sauvages ou cultivés qui traverse l'Afrique de l'Ouest et l'Afrique centrale. Au contraire, elle est marquée dans les régions où la culture du riz est fragmentée comme le *yam belt* d'Afrique centrale ou les zones à relief montagneux de Tanzanie. En cas de culture de riz continue, le virus se propage rapidement, alors qu'en présence d'obstacles physiques ou écologiques sa progression est ralentie. La vitesse de propagation du RYMV semble être dépendante de la continuité du paysage rizicole. La modification du paysage rizicole au cours des dernières décennies expliquerait le lien entre l'extension – et non seulement l'intensification – de la culture du riz et la propagation de la panachure. L'augmentation des surfaces cultivées réduirait la distance entre parcelles, permettrait aussi la colonisation de nouveaux champs auparavant isolés et, plus généralement, faciliterait la circulation du virus au travers de l'Afrique.

En fait, la gamme d'hôtes étroite du virus et la culture traditionnelle du riz en Afrique longtemps parcellaire ont longtemps restreint la propagation de la panachure. Ces particularités écologiques opposent le RYMV aux virus à large spectre d'hôtes ou infectant des cultures très répandues. La rapide diversification moléculaire du RYMV s'est faite sur le même pas de temps que sa relativement lente dispersion spatiale. La mise en relation de la diversification et de la dispersion a permis de reconstituer l'émergence et la propagation d'une maladie virale de plante. Une telle analyse n'aurait pas été possible avec des virus trop peu diversifiés ou trop rapidement disséminés. L'analyse de la diversité moléculaire du RYMV suggère donc une diversification initiale du virus en Afrique de l'Est, puis une propagation du virus d'est en ouest au travers du continent africain, avec des phases de diversification secondaire et des goulots d'étranglement interrégionaux (cf. Figure 13.2). Le goulot d'étranglement le plus manifeste est celui survenu lors de l'introduction du virus à Madagascar. Un goulot d'étranglement est apparent aussi entre le centre de diversification putatif du virus en Tanzanie et le reste de l'Afrique de l'Est. Le centre de diversification secondaire le plus prononcé se situe en Afrique de l'Ouest au Mali sur la boucle du Niger, centre de domestication du riz africain *O. glaberrima*. Là coexistent toutes les souches présentes en Afrique de l'Ouest. Le mode de dispersion de la panachure jaune du riz au travers de l'Afrique, tel que défini à l'issue de l'étude d'épidémiologie moléculaire, est illustré sur la figure 13.2. Il complète le cycle épidémiologique de la maladie, établi à l'issue des études plus classiques.

FIG. 13.2 | Biogéographie du RYMV

1) Le RYMV s'est diversifié initialement en Afrique de l'Est. À l'est de la Tanzanie, dans la zone de l'Eastern Arc Mountains (un des 20 centres de la biodiversité mondiale), on retrouve les souches de RYMV les plus basales, avec des distances moléculaires inter- et intrasouches les plus élevées. 2a) Le RYMV s'est dispersé à partir de ce centre de diversification. Cette dispersion est marquée par un goulot d'étranglement, les isolats étant issus de l'une seule des souches basales. 2b) Le RYMV s'est diversifié secondairement dans plusieurs régions d'Afrique de l'Est (lac Victoria, lac Malawi), conséquence d'un isolement par la distance. 2c) Le RYMV a été dispersé à grande distance à Madagascar. 3) Le RYMV s'est propagé jusqu'en Afrique centrale. La culture éparse du riz dans cette zone de culture d'igname (*yam belt*) s'est traduite par un isolement par la distance, ce qui a abouti à une différenciation marquée entre souches. 4) Le RYMV a finalement atteint l'Afrique de l'Ouest, probablement le long de l'axe fluvial Bénoué-Niger où poussent les hôtes sauvages et cultivés du virus. Il s'est diversifié dans la boucle du Niger, centre de domestication du riz africain, *Oryza glaberrima*. Il s'est ensuite dispersé rapidement dans les zones rizicoles d'Afrique de l'Ouest (*rice belt*).



4.2 Épidémiologie évolutive

Des études complémentaires, regroupées sous le terme générique d'épidémiologie évolutive, apportent des informations sur le mode et le tempo de dispersion du RYMV au travers de l'Afrique. Enfin, l'épidémiologie expérimentale permet de tester les hypothèses clés issues de ces études.

a) Pressions de sélection

L'analyse des pressions de sélection se fait en distinguant la diversité synonyme (dS) de la diversité non-synonyme (dN). À l'échelle du gène, on observe une diversité synonymique élevée et une diversité codante limitée, aboutissant à un faible ratio dN/dS . Ce faible ratio traduit que l'évolution du RYMV s'est faite sous forte contrainte sélective (les mutations codantes sont le plus souvent éliminées). La distance génétique entre isolats reflète donc davantage le temps de divergence (et donc d'isolement) entre isolats que l'intensité des phénomènes d'adaptation divergents (cf. Chapitre 9 pour des explications). L'analyse du rapport dN/dS à l'échelle du codon montre cependant quelques codons sous **sélection positive**. Le plus étudié est le codon 49 dans la zone centrale de la VPg, protéine multifonctionnelle impliquée dans la **réplication**, la **traduction** et le mouvement des virus. Expérimentalement, nous avons établi que cette zone était déterminante dans le changement d'espèces hôtes. Pour compléter ces études, nous testons si le polymorphisme observé à cette position est lié à l'histoire du riz en Afrique. En effet, l'un des allèles se retrouve exclusivement en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale, zones de culture de l'espèce de riz africain *O. glaberrima*. L'autre allèle est omniprésent sur le continent et son aire de distribution recouvre celle du riz asiatique *O. sativa*. Expérimentalement, nous testons s'il existe une relation entre le polymorphisme du codon 49 de la VPg et l'adaptation à l'une et/ou à l'autre de ces espèces de riz.

b) Tempo d'évolution

Une échelle de temps est nécessaire pour calibrer le scénario de propagation du virus au travers de l'Afrique. Elle permet de comprendre les liens qui existent entre le développement des épidémies et l'histoire du riz sur ce continent. Or, il n'existe pas de virus fossile pour déterminer une échelle de temps. En revanche, les virus évoluant très vite, des méthodes d'analyses statistiques récemment mises au point permettent d'extraire la composante temporelle de la diversité moléculaire d'isolats prélevés à différentes dates, et donc d'estimer la vitesse d'évolution du virus. Cette démarche, menée avec des virus animaux et humains, a été appliquée au RYMV pour lequel on dispose d'isolats collectés tout au long des qua-

rante années d'épidémie (Pinel-Galzi et coll. 2007). La connaissance du taux d'évolution moléculaire permet de dater l'apparition du virus dans les différentes régions d'Afrique. Comme il existe une relation significative entre la distance géographique et la distance génétique, cette dernière sera également indicative de l'échelle de temps. La vitesse moyenne de propagation du RYMV sera ainsi établie. Il sera possible aussi de calculer la vitesse de propagation rapide du RYMV le long de corridors privilégiés comme les grands fleuves, ou au contraire restreinte par des obstacles physiques (chaînes de montagne en Afrique de l'Est, océan Indien) ou agro-écologiques (rizières éparses en Afrique centrale, îles lointaines). Enfin, la démographie virale sera reconstruite dans trois régions à l'histoire épidémique contrastée : l'est de la Tanzanie, le centre présumé de la diversification initiale du virus, Madagascar avec un fort goulot d'étranglement et l'Afrique de l'Ouest avec des vagues épidémiques successives.

c) Recombinaisons

À partir de l'analyse des séquences, des phénomènes de recombinaison sont suspectés chez de nombreuses espèces virales de plantes. Les recombinaisons se traduisent notamment par des signaux phylogénétiques incongruents entre lignées selon les parties du génome. Ces analyses n'ont pas été concluantes avec le RYMV. Les analyses détectent parfois des signaux potentiels de recombinaison entre isolats géographiquement éloignés (par exemple entre un isolat de la Sierra-Leone et Madagascar). Or il n'y a pas eu de **coinfection** récente entre les isolats « parents ». L'hypothèse d'une recombinaison ancestrale est peu compatible avec un modèle d'évolution et de dispersion du virus à partir d'un centre d'origine en Afrique de l'Est. Par ailleurs, l'existence de compétitions entre souches (certaines souches dominant après co-inoculation) rend peu vraisemblable d'autres signaux potentiels de recombinaison. De tels signaux traduisent plus vraisemblablement des vitesses d'évolution différentes selon les gènes entre lignées. L'étude des phénomènes de recombinaison sera reprise au centre d'origine du virus, zone de diversité maximale, une fois qu'il aura été établi expérimentalement qu'il n'y a pas de compétition entre les souches qui y sont présentes. Si cette nouvelle étude aboutit à la mise en évidence de signaux de recombinaison fiables, on ne pourra alors exclure l'existence de phénomènes de recombinaison entre isolats géographiquement (et donc phylogénétiquement) proches. Ils seront cependant « silencieux » sur le plan des séquences, échapperont aux analyses de recombinaison et ne biaiseront pas les reconstructions phylogénétiques.

5. Conclusion

Tout au long de ce chapitre, nous nous sommes efforcés de montrer les apports de l'épidémiologie moléculaire dans l'étude de la biogéographie du RYMV. Cette démarche se justifiait par le thème même du livre. En effet, il s'agissait d'illustrer par ce chapitre transversal « d'application » les avancées récentes de l'épidémiologie moléculaire, domaine effectivement en pleine mutation. Cependant, nous avons aussi cherché à faire ressortir les acquis de l'épidémiologie classique. Sans les apports de l'agronomie, de la phytopathologie et de l'entomologie, la connaissance de l'écologie de la panachure serait restée succincte et la portée des études d'épidémiologie moléculaire limitée à des hypothèses impossibles à étayer. Le RYMV illustre bien la complémentarité des approches et des techniques réunies au sein d'une seule et même épidémiologie « moderne ».

➤ À RETENIR

La panachure jaune du riz et son virus

Alors que la demande en riz est croissante en Afrique, la production rizicole est fortement affectée par la panachure jaune du riz et son virus le *Rice yellow mottle virus* (RYMV). En effet, 40 ans après sa première description, la maladie affecte l'ensemble des zones et systèmes rizicoles en Afrique sub-saharienne (y compris Madagascar) en provoquant des pertes de récolte pouvant atteindre 20 à 100% (Calvert et coll. 2003). Le RYMV appartient au genre Sobemovirus pouvant servir de modèle pour des études d'écologie moléculaire : diversité suffisante et structurée mais non sujette au phénomène d'homoplâsie (Fargette et coll. 2004, Traoré et coll. 2005)

La contribution de l'épidémiologie classique à l'étude du RYMV

L'épidémiologie « traditionnelle » de la panachure jaune du riz a permis d'en établir l'étiologie (Bakker 1970) et d'en dégager plusieurs caractéristiques essentielles : gamme d'hôtes du RYMV, diversité pathogénique (Konaté et coll. 1997, Fargette et coll. 2002a), modes de transmission (Abo et coll. 1998, Sarra et coll. 2004, Traoré et coll. 2006) et méthodes de contrôle.

La contribution de l'épidémiologie moléculaire

L'étude de la biodiversité du RYMV a été complétée d'abord à l'aide de la sérologie avec utilisation d'anticorps monoclonaux à partir d'un corpus représentatif d'isolats (Konaté et coll. 1997, Fargette et coll. 2002b). Une caractérisation plus fine de la diversité moléculaire du virus a ensuite été obtenue par suite du séquençage partiel ou total du génome viral de nombreux isolats (Pinel et coll. 2000, Fargette et coll. 2004). La biogéographie du virus est marquée par la présence d'un centre d'origine à l'est de la Tanzanie et un centre de diversification secondaire dans le delta intérieur de la bouche du Niger au Mali (Traoré et coll. 2005).

QUESTIONNES DE DISCUSSION

L'épidémiologie classique a-t-elle toujours sa place dans le cas du RYMV? Malgré les acquis et les limites de ce type d'étude, plusieurs aspects relevant du domaine restent à explorer dans l'optique d'un meilleur contrôle du RYMV: identité fine des vecteurs, rôle dans la dispersion du virus, rôles des facteurs climatiques et de l'action de l'homme (changements de systèmes culturaux, tendance vers une révolution verte sur le modèle asiatique avec une place importante pour le riz), meilleure exploitation des sources de résistance au RYMV, prédiction des épidémies, modalités de mise en œuvre de stratégies de lutte intégrée associant lutte génétique et mesures prophylactiques, etc.

Quel apport pour l'épidémiologie moléculaire? Comme indiqué dans ce chapitre et dans le cas de plusieurs travaux biogéographiques sur des organismes animaux et végétaux, les études moléculaires devraient permettre d'affiner les acquis de l'épidémiologie classique, mais aussi d'élucider des aspects autrement difficiles ou impossibles à appréhender: mécanismes de la résistance virus-plantes hôtes, datation de l'émergence du virus, tempo d'évolution, mécanismes de dispersion, etc.

Implications pour la lutte contre la panachure jaune du riz. Pour la mise en place de méthodes de lutte efficaces contre la maladie, il est indispensable de disposer de données épidémiologiques suffisantes. L'étude biogéographique du RYMV a montré les possibilités et limites aussi bien de l'épidémiologie classique que des études moléculaires. Les deux types d'études doivent être menées en parallèle, l'aspect moléculaire rendant compte de l'intérêt plutôt cognitif, tandis que l'épidémiologie classique dégagerait un intérêt plus pratique.

LECTURES POUR ALLER PLUS LOIN

Pour connaître davantage le RYMV et la panachure jaune du riz:

Propriétés physico-chimiques, biochimiques et biologiques du RYMV: **Bakker (1975);**

Caractéristiques épidémiologiques du virus: **Abo et coll. (2000);**

Phylogéographie du RYMV: **Abubakar et coll. (2003).**

Pour mieux comprendre la biogéographie des micro-organismes: **Martiny et coll. (2006).**

Apport des études moléculaires dans la connaissance de la biogéographie et l'évolution des virus: **Rabenstein et coll. (2002), Fargette et coll. (2006, 2008).**

Glossaire

Adventice: plante herbacée ou ligneuse indésirable à l'endroit où elle se trouve; mauvaise herbe.

Anticorps monoclonaux: anticorps reconnaissant le même épitope car ils sont issus d'une seule lignée de plasmocytes, provenant d'une seule cellule.

Capside: ensemble des protéines entourant et protégeant l'acide nucléique dans le virion.

Coinfection: infection d'un même hôte par deux virus différents appartenant ou pas à la même espèce.

Épitope: domaine d'une protéine reconnu par un paratope (partie variable d'un anticorps).

Étiologie: l'étude des causes et des facteurs d'une pathologie.

Lutte intégrée: l'application rationnelle d'une combinaison de mesures biologiques, biotechnologiques, chimiques, physiques, culturales ou intéressant la sélection des végétaux dans laquelle l'emploi de produits chimiques est limité au strict nécessaire pour maintenir la présence des organismes nuisibles en dessous de seuil à partir duquel apparais-

sent des dommages ou des pertes économiquement inacceptables.

Réplication: étape du cycle viral pendant laquelle le génome viral est copié en de nombreux exemplaires.

Résistance à introgresser: résistance dont les déterminants génétiques (gènes de résistance) doivent être introduits dans une variété sensible aux virus.

Résistance contournée: résistance devenue inefficace de part l'adaptation du virus.

Sérotype: désigne une propriété antigénique permettant d'identifier un groupe de virus par des méthodes sérologiques. Les sérotypes permettent de nommer les subdivisions taxonomiques (de classement) de virus sur la base des caractéristiques de leurs antigènes.

Test variétal: comparaison des propriétés de différentes variétés de plantes.

Traduction: étape du cycle viral pendant laquelle les protéines virales sont synthétisées à partir du génome viral.

Virus icosaédrique: virus à capsid de forme sphérique présentant tout ou partie des éléments de symétrie des icosaèdres (solide formé de 20 faces).

Références

- Abo, M.E., Alegbejo, M.D., Sy, A.A. et Misari, S.M. (2000). An overview of the mode of transmission, host plants and methods of detection of rice yellow mottle virus. *Journal of Sustainable Agriculture* 17: 19-36.
- Abo, M.E., Sy, A.A., et Alegbejo, M.D. (1998). Rice yellow mottle virus (RYMV) in Africa: evolution, distribution, economic significance and sustainable rice production and management strategies. *Journal of Sustainable Agriculture* 11: 85-111.
- Abubakar, Z., Fadhila, A., Pinel, A., Traoré, O., N'Guessan, P., Notteghem, J.-L., Kimmins, F., Konaté, G. et Fargette, D. (2003). Phylogeography of Rice yellow mottle virus in Africa. *Journal of General Virology* 84: 733-743.
- Bakker, W. (1970). Rice yellow mottle, a mechanically transmissible virus disease of rice in Kenya. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 76: 53-63.
- Bakker, W. (1975). Rice yellow mottle virus. *Commonwealth Mycological Institute/Association of Applied Biologists Descriptions of plant viruses* 149: 1-4.
- Calvert, L.A., Koganezawa, H., Fargette, D. et Konaté G. (2003). Rice. In: *Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries* (eds. Loebenstein, G., and Thottappilly, G.), pp. 269-294, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Fargette, D., Konaté, G., Fauquet, C., Muller, E., Petersmitt, M. et Thresh, J. (2006). Molecular ecology and emergence of tropical plant viruses. *Annual Review of Phytopathology* 44: 235-260.
- Fargette, D., Pinel, A., Abubakar, Z., Traoré, O., Brugidou, C., Fatogoma, S., Hébrard, E., Choisy, M., Yacouba, S., Fauquet, C. et Konaté, G. (2004). Inferring the evolutionary history of Rice yellow mottle virus from genomic, phylogenetic and phylogeographic studies. *Journal of Virology* 78: 3252-3261.
- Fargette, D., Pinel, A., Halimi, H., Brugidou, C., Fauquet, C. et Van Regenmortel, M. (2002b). Comparison of molecular and immunological typing of isolates of Rice yellow mottle virus. *Archives of Virology* 147: 583-596.
- Fargette, D., Pinel, A., Rakotomalala, M., Sangu, E., Traoré, O., Sérémé, D., Sorho, F., Issaka, S., Hébrard, E., Séré, Y., Kanyeka, Z. et Konaté, G. (2008). Rice yellow mottle virus, an RNA plant virus, evolves as rapidly as most RNA animal viruses. *Journal of Virology* 82: 3584-3589.
- Fargette, D., Pinel, A., Traoré, O., Ghesquière, A. et Konaté, G. (2002a). Emergence of resistance-breaking isolates of Rice yellow mottle virus during serial inoculations. *European Journal of Plant Pathology* 108: 585-591.
- Konaté, G., Traoré, O. et Coulibaly, M.M. (1997). Characterization of rice yellow mottle virus isolates in Sudano-sahelian areas. *Archives of Virology* 142: 1117-1124.
- Martiny, J.B.H., Bohannan, B.J.M., Brown, J.H., Colwell, R.K., Fuhrman, J.A., Green, J.L., Homer-Devine, M.C., Kane, M., Krumins, J.A., Kuske, C.R., Morin, P.J., Naeem, S., Øvreas, L., Rey-Senbach, A.-L., Smith, V.H. et Staley, J.T. (2006). *Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. Nature Reviews Microbiology* 4: 108-112.
- Pinel, A., N'Guessan, P., Bousalem, M. et Fargette, D. (2000). Molecular variability of geographically distinct isolates of Rice yellow mottle virus in Africa. *Archives of Virology* 145: 1621-1638.

- Pinel-Galzi A., Rakotomalala M., Sangu E., Sorho F., Kanyeka Z., Traoré O., Sérémé D., Poulicard N., Rabenantandro Y., Séré Y., Konaté G., Ghesquière A., Hébrard E. et Fargette D. (2007).** Theme and variations in the evolutionary pathways to virulence of an RNA plant virus species. *PloS Pathogens* 3 (11), e180.
- Rabenstein, F., Seifers, D.L., Schubert, J., French, R. et Stenger, D.C. (2002).** Phylogenetic relationships, strain diversity and biogeography of tritimoviruses. *Journal of General Virology* 83: 895-906.
- Sarra, S., Oevering, P., Guindo, S. et Peters, D. (2004).** Wind-mediated spread of *Rice yellow mottle virus (RYMV)* in irrigated rice crops. *Plant Pathology* 53: 148-153.
- Traoré, O., Sorho, F., Pinel, A., Abubakar, Z., Banwo, O., Maley, J., Hébrard, E., Winter, S., Séré, Y., Konaté, G. et Fargette, D. (2005).** Processes of diversification and dispersion of Rice yellow mottle virus inferred from large-scale and high-resolution phylogeographic studies. *Molecular Ecology* 14: 2097-2110.
- Traoré, O., Traoré, M., Fargette, D. et Konaté, G. (2006).** Rice seedbed as a source of primary infection by Rice yellow mottle virus. *European Journal of Plant Pathology* 115: 181-186.

Fargette Denis, Konate G., Hébrard Eugénie,
Traore O.

De l'épidémiologie classique à l'épidémiologie
moléculaire : reconstitution de la
biogéographie du virus de la panachure jaune
du riz en Afrique.

In : Guégan Jean-François (ed.), Choisy Marc
(ed.). Introduction à l'épidémiologie
intégrative des maladies infectieuses et
parasitaires. Bruxelles : De Boeck, 2009, p.
457-475.

(LMD.Licence Maîtrise Doctorat.Cours
Biologie). ISBN 978-2-8041-5948-1