



HAL
open science

Approches intégratives et prise en compte des infections multiples chez les agents pathogènes des plantes

Charlotte Tollenaere

► To cite this version:

Charlotte Tollenaere. Approches intégratives et prise en compte des infections multiples chez les agents pathogènes des plantes. Evolution [q-bio.PE]. Université de Montpellier, 2023. <tel-04952029>

HAL Id: tel-04952029

<https://hal.science/tel-04952029v1>

Submitted on 17 Feb 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-ND 4.0 - Attribution - No Derivative Works - International License

Université de Montpellier
Ecole Doctorale GAIA
(Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau)



*Approches intégratives et prise en
compte des infections multiples chez
les agents pathogènes des plantes*



Dossier de candidature

Charlotte TOLLENAERE

Je déclare avoir respecté, dans la conception et la rédaction de ce mémoire d'HDR, les valeurs et principes d'intégrité scientifique destinés à garantir le caractère honnête et scientifiquement rigoureux de tout travail de recherche, visés à l'article L.211-2 du Code de la recherche et énoncés par la Charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et la Charte d'intégrité scientifique de l'Université de Montpellier.

Je m'engage à les promouvoir dans le cadre de mes activités futures d'encadrement de recherche.

Je tiens à remercier l'ensemble de mes collègues auprès de qui j'ai eu la chance de me trouver dans des environnements de travail stimulants, à Helsinki, à Montpellier et au Burkina Faso ; ainsi que mes proches et en particulier Paul, Samuel et Lucas.

Table des matières

CURRICULUM VITAE DETAILLE	1
BREF CV	1
GESTION ET ANIMATION DE LA RECHERCHE	3
EXPERTISE SCIENTIFIQUE	5
CONTRATS DE RECHERCHE ET FINANCEMENTS	6
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	7
ENSEIGNEMENTS ET ENCADREMENT	11
TRAVAUX SCIENTIFIQUE	15
PREAMBULE / CONTEXTE	15
QUESTIONS DE RECHERCHE	18
MODELE BIOLOGIQUE : LE RIZ ET LES MALADIES DU RIZ EN AFRIQUE DE L'OUEST	21
1. ESTIMATION DES NIVEAUX DE CO-INFECTION, ET DE L'EFFET DE LA CO-INFECTION SUR LES SYMPTOMES ET LA MULTIPLICATION INTRA-PLANTE	24
2. DYNAMIQUE SPATIO-TEMPORELLE DES AGENTS PATHOGENES DE PLANTES	26
3. CARACTERISATION GENETIQUE DES PLANTES HOTES	33
4. STRUCTURATION DES COMMUNAUTES MICROBIENNES ASSOCIEES AUX PLANTES	35
5. EVOLUTION DE LA DIVERSITE GENETIQUE ET PATHOGENIQUE DES AGENTS PATHOGENES DE PLANTES	39
6. DECOUVERTE DE NOUVEAUX VIRUS DE PLANTES GRACE A UNE APPROCHE SANS A PRIORI 'VIROME'	42
QUELQUES ELEMENTS DE DISCUSSION POUR CONCLURE SUR LES TRAVAUX DE RECHERCHE	44
PROJET DE RECHERCHE	47
OBJECTIF GLOBAL : FOCUS SUR LES CONSEQUENCES EVOLUTIVES DE LA CO-INFECTION	47
UN NOUVEL ECHANTILLONNAGE DE FEUILLES DE RIZ AU BURKINA FASO POUR REpondre A CES OBJECTIFS	50
OBJECTIF 1 : IMPACT DE LA CO-INFECTION SUR LA STRUCTURATION DES AGENTS PATHOGENES	52
OBJECTIF 2: CARACTERISATION DE LA DIVERSITE GENETIQUE INTRA-HOTE CHEZ LES VIRUS	53
OBJECTIF 3 : CONSEQUENCES EVOLUTIVES DE LA CO-INFECTION PAR UNE APPROCHE D'EVOLUTION EXPERIMENTALE	54
CONCLUSION	56
IMPLICATIONS POUR LA COMPREHENSION DE LA DYNAMIQUE DES INTERACTIONS HOTES / AGENTS PATHOGENES	56
APPLICATIONS POUR LE CONTROLE DES MALADIES DES CULTURES	57
RÉFÉRENCES CITÉES	58
ANNEXES : TIRES A PART DES PRINCIPAUX TRAVAUX	67

Curriculum vitae détaillé

Bref CV

Nom : TOLLENAERE

Prénom : Charlotte

charlotte.tollenaere@ird.fr

<https://twitter.com/ChaTollenaere>

https://www.researchgate.net/profile/Charlotte_Tollenaere

Née le 19 Aout 1982 (39 ans)

Nationalité française

Deux enfants (nés en 2010 et 2013)

Adresse professionnelle :

UMR PHIM (Plant Health Institute of Montpellier)

Centre IRD Montpellier Lavalette

911, avenue Agropolis

34394 Montpellier cedex 05. France

Cursus académique

2006-2009 : Thèse de l'**Université Montpellier 2**, sous la direction de Jean-Marc Duplantier et Carine Brouat.

2002-2006 : Elève fonctionnaire stagiaire de l'**Ecole Normale Supérieure de Cachan** :

2005-2006 : **Master 2** Biologie Géologie Agroressources Environnement (BGAE), spécialité Ecologie Biodiversité Evolution (EBE) parcours Biologie de l'Evolution et Ecologie (BEE) à l'université Montpellier 2.

2004-2005 : Préparation à l'**Agrégation SV-STU** (Sciences de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers, option B) à l'Université Montpellier 2. Reçue 63^{ème}.

2003-2004 : **Maîtrise** de Biologie des Populations et des Ecosystèmes réalisée à l'université de Valence (Espagne) dans le cadre d'un échange ERASMUS (mention Bien)

2002-2003 : **Licence** de Biologie mention Biologie Cellulaire et Physiologie (mention Assez Bien) à l'Université Paris XI (Orsay).

Expérience professionnelle

Depuis Décembre 2012 : Chargée de Recherches à l'Institut de Recherches pour le Développement (IRD) au sein de l'UMR Plant Health Institute of Montpellier (PHIM)

201-2012 : Post-doctorat à l'Université d'Helsinki au sein du Metapopulation Research Group (MRG), en collaboration avec Anna-Liisa Laine et Ilkka Hanski

2009-2010 : Attachée Temporaire d'Enseignement et de Recherche (**ATER**) de l'Université Montpellier 2 (temps plein). Gestion de l'**organisation de la préparation au capes** de l'Université Montpellier 2 au cours de l'année 2009-10 : définition des intervenants et du planning pour les 18 étudiants préparant le CAPES.

2006-09 : Thèse de l'Université Montpellier 2 (Allocation Couplée), réalisée au Centre de Biologie et de Gestion des Populations (Institut de Recherche pour le Développement, IRD) en collaboration avec l'Institut Pasteur de Madagascar, sous la direction de Jean-Marc Duplantier et Carine Brouat. **Moniteur** de l'Université Montpellier 2 (tuteur : Sylvain Glémin).

Du 15 janvier au 30 juin **2006** : Stage au **Centre de Biologie et de Gestion des Populations** (CBGP, Montferrier sur Lez) avec Nathalie Charbonnel et Josef Bryja. *Sélection balancée par les parasites sur le Complexe Majeur d'Histocompatibilité : Détection et mécanismes dans le cas du gène DQA classe II chez un campagnol à démographie cyclique.*

Juillet-Août **2004** : Stage au **Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive** (CEFE, Montpellier) avec Doyle McKey et Anna Saltmarsh. *Génétique des populations d'une plante tropicale myrmécophyte : utilisation de marqueurs microsatellites pour tester l'hypothèse d'une expansion récente de *Leonardoxa africana* subsp. *africana*.*

Juillet-Août **2003** : Stage au **Laboratoire d'Ecologie Alpine** (LECA, Grenoble) avec Laurence Desprès et Christiane Gallet. *Ecologie chimique d'une interaction plante/Insecte : recherche de composés émis par les fruits de *Trolla* en réponse à la présence des larves de *Chiastochète*.*

Localisation géographique / Affectations

Montpellier (France) de 2006 à 2010, puis de 2013 à 2015 et enfin de 2015 à 2022

Helsinki (Finlande) en 2011-2012

Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) de septembre 2015 à aout 2019

Pratique des langues étrangères

Anglais : lu, écrit, parlé

Espagnol : lu, écrit, parlé

Gestion et animation de la recherche

Co-direction du Laboratoire International PathoBios

Le **LMI (Laboratoire Mixte International) PathoBios** (Observatoire des Agents Phytopathogènes en Afrique de l'Ouest) a été créé en 2013, afin de formaliser le partenariat existant de longue date entre l'IRD et l'**INERA** (Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles) au Burkina Faso, dans le domaine de la **protection des végétaux**. Les objectifs du LMI PathoBios sont les suivants : (1) mettre en place une biosurveillance des cultures vivrières avec des méthodes de diagnostic efficaces ; (2) améliorer les connaissances de l'épidémiologie des principaux bio-agresseurs des cultures; (3) développer des variétés résistantes aux bio-agresseurs; (4) identifier et vulgariser des pratiques culturales adaptées, incluant les méthodes biologiques (extraits de plantes, micro-organismes phytobénéfiques....); (5) proposer des méthodes efficaces pour le contrôle de la qualité sanitaire des semences et (6) utiliser les connaissances acquises sur les bio-agresseurs pour développer des outils biotechnologiques. Il est implanté sur **deux sites au Burkina Faso** : l'INERA Kamboinsé, à proximité de Ouagadougou et l'INERA Farako-Bâ, à Bobo-Dioulasso. Ces plateformes opérationnelles permettent de réaliser les principales manipulations en biologie moléculaire, en microbiologie et les expérimentations végétales.

Dès mon recrutement et encore plus à partir de mon expatriation à Bobo-Dioulasso en septembre 2015, je me suis impliquée dans la vie du LMI PathoBios, participant aux animations des **comités de suivi** et décisions prises lors des **comités de direction**. Depuis 2021, en prévision du départ à la retraite de Christophe Brugidou, j'assume officiellement le rôle de **co-directrice IRD** du LMI PathoBios avec Bouma James Neya (directeur LMI pour l'INERA).

La coordination du LMI PathoBios consiste notamment à organiser des comités de direction réguliers (4-6 par an) pour décider d'actions communes, suivre le fonctionnement des plateformes opérationnelles, gérer le budget et l'animation scientifique. Entre 2019 et 2021, nous avons ainsi par exemple arbitré des **micro-projets scientifiques** (entre 1500 et 2000 euros selon les années) ayant pour but de constituer des tremplins pour monter des projets de recherche plus ambitieux. Je me suis fortement impliquée dans les aspects de **communication**, avec la réhabilitation du site web [PathoBios](#), et sa traduction en anglais, ainsi que des pages créées sur les réseaux sociaux twitter ([@PathoBios](#)) et facebook ([LMIPathoBios](#)).

La seconde phase de ce LMI a commencé en janvier 2019. Celle-ci se traduit par une continuité du partenariat INERA-IRD et un **élargissement** à l'Université Nazi Boni (UNB), l'Université Joseph Ki-Zebo (UJKZ), le CIRAD en France, et l'Université Catholique de Louvain (UCL) en Belgique. Une étape de bilan à mi-parcours de la seconde phase a eu lieu en mars 2021 et s'est soldée par une évaluation très positive des actions menées par l'IRD.

Malgré la pandémie qui a réduit nos possibilités de voyages et de rencontres en présentiel, et la situation sécuritaire au Sahel, nous maintenons des activités soutenues, comme en témoignent l'organisation de **journées scientifiques régulières**, et la participation à

l'organisation d'un congrès fin 2021 : le [CIPVA](#) (Colloque International sur la Protection des Végétaux en Afrique).

Outre le travail réalisé au Burkina Faso, le LMI PathoBios a une **vocation sous-régionale**, et des collaborations dynamiques (projets en commun, accueils, missions) existent avec de nombreux pays de la sous-région. Pour ma part, je suis notamment impliquée dans le partenariat avec AfricaRice en **Côte d'Ivoire** (dans le cadre du CRP Rice, voir ci-dessous), avec l'UCAD au **Sénégal** (LMI LAPSE, voir partie 'enseignements' ; j'avais aussi participé à une 'Rencontres multi-acteurs autour de l'agro-écologie' en novembre 2015), et dans une moindre mesure avec l'université de Bamako au **Mali** (LMI DynPathos).

Participation à la coordination des fonds du CRP-Rice alloués à l'IRD

En 2021 et 2022, j'ai contribué à la coordination des fonds du **CGIAR Research Project (CRP) on Rice**, un consortium international rassemblant l'IRRI, le CIAT, l'AfricaRice, le JIRCAS, le Cirad et l'IRD. Au niveau de l'IRD, avec le responsable, Alain Ghesquière, et Antony Champion (correspondant UMR DIADE), nous avons coordonné la répartition des **budgets** (environ 200 000\$ annuels), incluant des fonds partagés entre équipes et des actions transversale, tels que par exemple, le [Rice Genome Hub](#).

Je me suis particulièrement impliquée dans des **actions menées au Burkina Faso**, notamment la mise en place avec Issa Wonni et Agnieszka Klonowska, à Bama au Burkina Faso, d'un essai du Global Rice Array ([GRA](#)), un réseau mondial d'essais utilisant un ensemble d'une soixantaine de variétés représentatives de la diversité mondiale du riz, afin de caractériser les interactions entre génotypes, environnements et pratiques.

Enfin, nous menons aussi des actions d'animation, notamment la création d'un **site web** vitrine portant sur les activités des chercheurs français sur le riz et la riziculture (avec Didier Tharreau, Cirad).

Organisation de congrès

J'ai fait partie du comité scientifique pour le congrès international '**Ecology and Evolution of Infectious Diseases (EEID)**' qui a eu lieu du 14 au 17 juin 2021 en visioconférence (900 participants).

J'ai co-organisé avec des collègues de l'IRD, du Cirad et de l'AfricaRice le colloque '**Rice Diseases : Improving Epidemiology and disease diagnosis for sustainable management**' du 24 au 26 Novembre 2014, à Montpellier. Cet évènement a été financé par le GRISP (Global Rice Science Partnership) et a rassemblé 30 chercheurs internationaux (centres internationaux ou instituts nationaux africains).

Participation à la vie de l'UMR et de l'IRD

- Elue au **Conseil d'Unité** de l'UMR RPB puis IPME de 2013 à 2015
- Co-organisatrice des **séminaires genetrop** (rassemble deux UMR IRD travaillant en biologie des plantes) en 2015.
- **Correspondante APA** (Accès et Partage des Avantages) dans le cadre du respect du protocole de Nagoya pour l'UMR PHIM depuis 2021.
- Participation au Webinaire IRD « **Introduction à la science ouverte** » le 16 Mars 2021, avec un témoignage de chercheur concernant la mise en ligne sur l'entrepôt de données IRD (voir aussi p09) de données collectées au Burkina Faso.

Expertise scientifique

Participation à des jury et comités de thèses

J'ai participé au **comité de thèse** d'[Hilaire Kaboré](#) (Université de Paris Saclay, UMR PHIM) sur le thème 'Développement et utilisation d'outils de diagnostic pour les maladies fongiques du riz' (2019-2021). Je participe actuellement à celui de [Paola Fournier](#) (UMR SAVE : Santé et Agronomie des Vignes) sur le thème 'Vers une viticulture sans pesticide: analyse du microbiome de la vigne et des sols viticoles pour développer le biocontrôle microbien de l'oïdium et du mildiou' (2021-2023).

J'ai été **examinatrice** de la thèse d'[Amadou Diallo](#), sur le thème 'Structure génétique des populations de *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, diversité du TALome et évaluation de la résistance de variétés élites de riz au Burkina Faso', en cotutelle entre l'Université de Montpellier et l'Université Joseph Ki-Zerbo ; la soutenance a eu lieu le 22 Juillet 2021.

J'ai été **rapporteuse** de la thèse de [Amit Mary Philosoph](#), de 'Hebrew University of Jerusalem' sur le thème 'The interactions between cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) and *Pythium* spp. in cucumber plants' en Mai 2021.

Relectrice d'articles scientifiques

J'ai contribué à la **relecture de 25 articles scientifiques** pour les journaux suivants : *Biological Invasions*, *BMC Evolutionary Biology*, *Ecology*, *Evolution*, *Fungal Ecology*, *Infection*, *Genetics and Evolution*, *International Journal of Immunogenetics*, *Journal of Biogeography*, *Molecular Ecology*, *Mycology* et *Wildlife Research*.

Une liste non exhaustive est disponible sur [Publons](#).

Autres activités d'expertise scientifique

- Membre du jury de **concours de chercheur** au Cirad en 2022.
- **Expert thématique** pour évaluer un projet sur l'agrobiodiversité lors d'une formation au montage de projet au Bénin (participation en visioconférence) en juillet 2021.

Contrats de recherche et financements

- Coordinatrice du projet **EV COPAR** (Evolution of CO-infecting PAtHogens in Rice), financé par l'ANR, programme 'Jeunes Chercheuses et Jeunes Chercheurs' (JCJCs) (319 K€, 2021-2023). Ce projet implique l'IRD, l'INERA et l'INRAE.
- Participante au projet **SPADYVA** (Spatio-temporal dynamics of viral populations associated to rice in West Africa), financé par l'ANR, programme JCJCs, coordonné par Nils Poulicard (300 K€, 2021-2023). Ce projet implique l'IRD, le MNHN, le Cirad et le CNRS.
- Participante projet **MicAgroRice** (Microbiome for AgroEcology in Rice) coordonné par Agnieszka Klonowska, financé par le Labex Agropolis (25 K€, de Juin 2020 à Mai 2021). Ce projet impliquait l'IRD, l'INERA et le Cirad.
- Participante aux activités du **CRP (CGIAR Research Program) RICE** de mon équipe (IPPS puis VICITA) entre 2016 et 2021 (15-20 K€/an). Ce projet rassemble l'[IRRI](#), [AfricaRice](#), le [CIAT](#), le [Cirad](#), le [JIRCAS](#) et l'IRD (voir p04).
- Coordinatrice du projet **RiPaBIOME** (Rice Pathogenic microBIOME : focus on bacterial and fungal within-plant pathogen interactions in West Africa) financé par le Labex Agropolis (appel "Young Scientists") à hauteur de 30 K€, de juin 2018 à décembre 2019. Ce projet implique l'IRD, l'INERA et le Cirad.
- Coordinatrice d'un work-package du projet étandard **E-Space** (Epidemiologie des Plantes Tropicales et Méditerranéennes), financé par le Labex Agropolis (800 K€, 2016-2019). J'ai coordonné le WP3 ('Understanding how long-term phytobiome-plant-environment interactions drive the emergence or non-emergence of rice diseases') avec Christian Vernière et Philippe Roumagnac. Ce projet impliquait SupAgro, le Cirad, l'INRAE, l'ANSES, l'IRD et l'UM.
- Coordinatrice d'un appui du département ECOBIO pour un projet trans-UMR (DIAD-IPME) sur les communautés bactériennes des racines de riz au Burkina Faso (10 K€) en 2017.

- Coordinatrice du **projet VIRBIARF** (VIRus-Bacteria Interactions in African Rice Fields), financé par le Labex Agropolis (24 K€, 2015-2016). Ce projet impliquait l'IRD et l'INERA.

Publications et communications

Au 31 Mars 2022, je suis co-auteure de **19 publications** dans des revues de rang A, dont 12 en premier auteur et 3 en dernier.

Numéro ID ORCID : [0000-0003-2045-2824](https://orcid.org/0000-0003-2045-2824)

Nombre total de citations : 833, dont 490 depuis 2017

h-index : 14

Liste complète des publications

19. Barro, M.; Konate, K.A.; Wonni, I.; Kassankogno, A.I.; Sabot, F.; Albar, L.; Somda, I.; Béna, G.; Ghesquière, A.; Kam, H.; Sié, M.; Cubry, P.*; Tollenaere, C.* Assessment of Genetic Diversity of Rice in Registered Cultivars and Farmers' Fields in Burkina Faso. *Crops* **2021**, *1*, doi:10.3390/crops1030013. *equal contribution

18. Barro, M.; Kassankogno, A.I.; Wonni, I.; Sereme, D.; Somda, I.; Kaboré, K.H.; Bena, G.; Brugidou, C.; Tharreau, D.; Tollenaere, C. Spatiotemporal Survey of Multiple Rice Diseases in Irrigated Areas Compared to Rainfed Lowlands in the Western Burkina Faso. *Plant Disease* **2021**, doi:10.1094/PDIS-03-21-0579-RE.

17. Bangratz, M.; Wonni, I.; Kini, K.; Sondo, M.; Brugidou, C.; Béna, G.; Gnacko, F.; Barro, M.; Koebnik, R.; Silué, D.; Tollenaere, C. Design of a new multiplex PCR assay for rice pathogenic bacteria detection and its application to infer disease incidence and detect co-infection in rice fields in Burkina Faso. *PLOS ONE* **2020**, *15*, e0232115, doi:10.1371/journal.pone.0232115.

16. Tollenaere, C.; Lacombe, S.; Wonni, I.; Barro, M.; Ndougou, C.; Gnacko, F.; Sereme, D.; Jacobs, J.M.; Hebrard, E.; Cunnac, S.; Brugidou C. Virus-Bacteria Rice Co-Infection in Africa: Field Estimation, Reciprocal Effects, Molecular Mechanisms, and Evolutionary Implications. *Frontiers in Plant Science* **2017**, *8*, doi:10.3389/fpls.2017.00645.

15. Tollenaere, C.; Susi, H.; Laine, A.L. Evolutionary and Epidemiological Implications of Multiple Infection in Plants. *Trends in Plant Science* **2016**, *21*, 80-90, doi:10.1016/j.tplants.2015.10.014.

14. Jousimo, J.; Tack, A.J.M.; Ovaskainen, O.; Mononen, T.; Susi, H.; Tollenaere, C.; Laine, A.-L. DISEASE ECOLOGY Ecological and evolutionary effects of fragmentation on infectious disease dynamics. *Science* **2014**, *344*, 1289-1293, doi:10.1126/science.1253621.

13. Soubeyrand, S.; Tollenaere, C.; Haon-Lasportes, E.; Laine, A.-L. Regression-Based Ranking of Pathogen Strains with Respect to Their Contribution to Natural Epidemics. *Plos One* **2014**, *9*, doi:10.1371/journal.pone.0086591.

12. Brouat, C.; Tollenaere, C.; Estoup, A.; Loiseau, A.; Sommer, S.; Soanandrasana, R.; Rahalison, L.; Rajerison, M.; Piry, S.; Goodman, S.M.; Duplantier, J.-M. Invasion genetics of a human commensal rodent: the black rat *Rattus rattus* in Madagascar. *Molecular Ecology* **2014**, *23*, 4153-4167, doi:10.1111/mec.12848.

11. Tollenaere, C.; Pernechele, B.; Makinen, H.S.; Parratt, S.R.; Nemeth, M.Z.; Kovacs, G.M.; Kiss, L.; Tack, A.J.M.; Laine, A.L. A hyperparasite affects the population dynamics of a wild plant pathogen. *Molecular Ecology* **2014**, *23*, 5877-5887, doi:10.1111/mec.12908.

10. Tollenaere, C.; Laine, A.L. Investigating the production of sexual resting structures in a plant pathogen reveals unexpected self-fertility and genotype-by-environment effects. *Journal of Evolutionary Biology* **2013**, *26*, 1716-1726, doi:10.1111/jeb.12169.

9. Tollenaere, C.; Jacquet, S.; Ivanova, S.; Loiseau, A.; Duplantier, J.M.; Streiff, R.; Brouat, C. Beyond an AFLP genome scan towards the identification of immune genes involved in plague resistance in *Rattus rattus* from Madagascar. *Molecular Ecology* **2013**, *22*, 354-367, doi:10.1111/mec.12115.

8. Tollenaere, C.; Susi, H.; Nokso-Koivisto, J.; Koskinen, P.; Tack, A.; Auvinen, P.; Paulin, L.; Frilander, M.J.; Lehtonen, R.; Laine, A.-L. SNP Design from 454 Sequencing of *Podospaera plantaginis* Transcriptome Reveals a Genetically Diverse Pathogen Metapopulation with High Levels of Mixed-Genotype Infection. *Plos One* **2012**, *7*, doi:10.1371/journal.pone.0052492.

7. Tollenaere, C.; Ivanova, S.; Duplantier, J.-M.; Loiseau, A.; Rahalison, L.; Rahelinirina, S.; Brouat, C. Contrasted Patterns of Selection on MHC-Linked Microsatellites in Natural Populations of the Malagasy Plague Reservoir. *Plos One* **2012**, *7*, doi:10.1371/journal.pone.0032814.

6. Tollenaere, C.; Duplantier, J.M.; Rahalison, L.; Ranjalahy, M.; Brouat, C. AFLP genome scan in the black rat (*Rattus rattus*) from Madagascar: detecting genetic markers undergoing plague-mediated selection. *Molecular Ecology* **2011**, *20*, 1026-1038, doi:DOI 10.1111/j.1365-294X.2010.04633.x.

5. Tollenaere, C.; Brouat, C.; Duplantier, J.M.; Rahalison, L.; Rahelinirina, S.; Pascal, M.; Mone, H.; Mouahid, G.; Leirs, H.; Cosson, J.F. Phylogeography of the introduced species *Rattus rattus* in the western Indian Ocean, with special emphasis on the colonization history of Madagascar. *Journal of Biogeography* **2010**, *37*, 398-410, doi:10.1111/j.1365-2699.2009.02228.x.

4. Charbonnel, N.; Bryja, J.; Galan, M.; Deter, J.; Tollenaere, C.; Chaval, Y.; Morand, S.; Cosson, J.F. Negative relationships between cellular immune response, Mhc class II heterozygosity and secondary sexual trait in the montane water vole. *Evolutionary Applications* **2010**, *3*, 279-290, doi:10.1111/j.1752-4571.2009.00108.x.

3. Tollenaere, C.; Rahalison, L.; Ranjalahy, M.; Duplantier, J.M.; Rahelinirina, S.; Telfer, S.; Brouat, C. Susceptibility to *Yersinia pestis* Experimental infection in Wild *Rattus rattus*,

Reservoir of Plague in Madagascar. *Ecohealth* **2010**, 7, 242-247, doi:DOI 10.1007/s10393-010-0312-3.

2. Tollenaere, C.; Rahalison, L.; Ranjalahy, M.; Rahelinirina, S.; Duplantier, J.M.; Brouat, C. CCR5 polymorphism and plague resistance in natural populations of the black rat in Madagascar. *Infection Genetics and Evolution* **2008**, 8, 891-897.

1. Tollenaere, C.; Bryja, J.; Galan, M.; Cadet, P.; Deter, J.; Chaval, Y.; Berthier, K.; Salvador, A.R.; Voutilainen, L.; Laakkonen, J.; Henttonen, H.; Cosson, J.-F.; Charbonnel N. Multiple parasites mediate balancing selection at two MHC class II genes in the fossorial water vole: insights from multivariate analyses and population genetics. *Journal of Evolutionary Biology* **2008**, 21, 1307-1320.

Publications de jeux de données

Selon les principes FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable), j'ai publié plusieurs jeux de données dans l'entrepôt IRD DataSuds :

- Spatiotemporal survey of major rice diseases in western Burkina Faso: <https://doi.org/10.23708/8FDWIE>
- Soil Physicochemical Properties in rice fields from six sites in western Burkina Faso, 2018: <https://doi.org/10.23708/LZ8A5B>

Aussi, les données génétiques et génomiques ont été soumises à NCBI (voir par exemple : le 'bioprojet' PRJNA763095 sur le microbiome racinaire du riz au Burkina Faso).

Publication en cours de relecture par les pairs

Barro, M., Wonni, I., Kassankogno, A. I., Klonowska, A., Somda, I., Simonin, M., Moulin, L., Béna, G., Brunel, C.*, Tollenaere, C.* (soumis à *FEMS Microbiology Ecology*). The impact of the rice production system (irrigated vs lowland) on root-associated microbiome from farmer's fields in western Burkina Faso. Article en ligne (*bioRxiv*): doi.org/10.1101/2022.03.29.486073

*equal contribution

Publications en cours de rédaction

Billard E., Barro M., Sérémé D., Bangrtz M., Wonni I., Koala M., Kassankogno A.I., Hébrard E., Thébaud G., Brugidou C., Poulicard N.*, Tollenaere C.* Dynamics of diversity of the Rice yellow mottle disease at local scale in western Burkina Faso. *equal contribution

Bangratz M., Barro M., Sérémé D., Wonni I., Kassankogno A.I., Roumagnac P., Filloux D., Fernandez E., Orjuela J., Comte A., Tollenaere C.*, Poulicard N.* Characterization of a novel *Bymovirus* infecting rice in Burkina Faso by combining metagenomics and targeted sequencing. *equal contribution

Chapitre d'ouvrage

Ravigné, V., Halkett, F. Tollenaere C. 2021. « Coévolution plantes – parasites en populations naturelles ». In: Lannou, C., Hannachi, M., Moury, B., Ravigné, V., Roby, D, L'immunité végétale. QUAE. <https://agritrop.cirad.fr/598210/>

Mémoires

Tollenaere, C. 2009. *Génétique et évolution du rat noir, Rattus rattus, réservoir de la peste à Madagascar*. Thèse de l'Université Montpellier 2, Montpellier. 148 pages. <https://theses.fr/2009MON20205>

Tollenaere, C. 2006. *Sélection balancée par les parasites sur le Complexe Majeur d'Histocompatibilité : Détection et mécanismes chez un campagnol à démographie cyclique*. Master 2 Master Biologie de l'évolution et écologie. Université Montpellier 2.

Communications orales internationales

J'ai présenté oralement 7 communications dans des congrès internationaux :

- **International Phytobiomes Conference**, décembre 2018 Montpellier. *Multiple infections in rice from West Africa: mechanisms, epidemiological and evolutionary implications*.
- **Journées des Sciences de la Santé de Bobo-Dioulasso (JSSB)**, mai 2018, Bobo-Dioulasso. *Interactions intra-plante en contexte de co-infection chez le riz : importance épidémiologique, mécanismes et conséquences évolutives*.
- **Rencontres Plantes-Bactéries**, janvier 2018, Aussois. *Interactions intra-plante dans les rizières de l'Ouest du Burkina Faso*.
- **Pathobiome: Pathogens in microbiotas in hosts**, juin 2015, Paris. *Within plant multiple infections, Molecular mechanisms and evolutionary consequences*.
- **International Powdery Mildew Workshop**, février 2011, Zurich (Suisse). *Designing SNP (Single-Nucleotide Polymorphism) markers from 454 transcriptome sequencing in the Plantago powdery mildew*.
- **European Society for Evolutionary Biology (ESEB)**, août 2009, Turin (Italie). *Detecting genetic markers associated with plague resistance in natural populations of Rattus rattus through AFLP genome scan*.
- **Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases (MEEGID)**, octobre 2008, Irvine (Californie). *Limited evidence for association between CCR5 polymorphism and plague resistance in Rattus rattus from Madagascar*.

J'ai proposé une communication orale pour le congrès « 15th International Symposium of Plant Virus Epidemiology » [ISPVE](#) à Madrid en Juin prochain. *Rice yellow mottle disease in western Burkina Faso: incidence, diversity and dynamics at local scale.*

Communications grand public

- Participation à l'évènement '**Je pense donc je suis**', organisé par l'Institut Français de Bobo-Dioulasso, en mars 2019, en binôme avec Mariam Barro, avec une intervention sur le thème 'Ennemis des plantes, ennemis des hommes. Maladies des cultures et sécurité alimentaire' au Lycée Mixte Accart-Ville et au Lycée National.
- Accompagnement du **Club Science du Lycée Ouezzin Coulibaly**, financé par l'IRD, sur l'année scolaire 2017-2018. Une vingtaine de lycéens ont travaillé sur les maladies du riz, avec une sortie de terrain permettant l'observation des symptômes au champ, une visite de laboratoire pour le diagnostic et enfin, une conférence finale récapitulant les aspects découverts.
- Intervention ponctuelle au lycée Diderot de Narbonne, classe de première, pour présenter mon travail de thèse en 2009.
- Participation à l'évènement '**Darwin en Plein Air**', ateliers de vulgarisation de l'évolution au zoo de Lunaret (Montpellier) en 2008.
- Participation à l'élaboration d'un film illustrant le travail de Mariam Barro, et réalisé par un étudiant de l'ISIS à Ouagadougou : [Lié](#) (qui signifie 'la rizière' en dioula).
- Participation à la rédaction d'une fiche d'actualité IRD : <https://www.ird.fr/riziere-irriguee-ou-pluviale-laquelle-resiste-le-mieux-aux-maladies>

Enseignements et encadrement

Cours et formations dispensées

❖ Université de Montpellier (UM) :

Durant mon monitorat (3 ans de thèse) et l'année d'ATER qui a suivi, j'ai dispensé 350 heures (équivalent TD) d'enseignement, dont 300h en Licence (TP d'anatomie et physiologie animale et végétale en Licence 1, TP/TD en écologie et évolution en Licence 3) et 50h en préparations aux concours de l'enseignement (CAPES et Agrégation)

Depuis mon recrutement à l'IRD, j'ai réalisé des interventions ponctuelles dans les modules de Master suivants :

- UE de Virologie en master 2 Biologie-Agrosciences, cours sur la 'Détection des virus de plantes. Applications pour la sécurité alimentaire en Afrique' en 2021.

- Ecole thématique 'Génomique, Agroécologie et Amélioration des Plantes Méditerranéennes et Tropicales', j'ai fait une brève intervention sur le LMI PathoBios dans la session "Dispositifs au Sud" en 2021.
- Module 'Interactomique' en Master 2 "Biologie intégrative des systèmes parasites" (BISP), avec en 2014, un cours sur l'Epidémiologie et évolution dans les méta-populations de phytopathogènes, puis en 2019 et 2020, une intervention intitulée 'Infections multiples chez les plantes: importance, mécanismes moléculaires et conséquences évolutives. Etude des maladies du riz au Burkina Faso'.
- Module de phytopathologie tropicale en Master 1, cours sur l'Evolution des populations d'agents phytopathogènes' en 2014.

❖ Université Cheikh Anta Diop (UCAD) de Dakar (Sénégal):

Je me suis impliquée dans l'enseignement de la phytopathologie dans cette université où les compétences en phytopathologie sont rares. J'ai participé au module de phytopathologie du Master PPV (Phytopharmacie et Protection des Végétaux) en donnant deux cours d'1h30 chacun ('Diagnostic des maladies des cultures' et 'Infections multiples') chaque année entre 2017 et 2019, puis un en 2020 et 2021.

❖ Université Nazi Boni (UNB) de Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) :

J'ai initié en 2019 des interventions dans le master PIC (Protection Intégrée des Cultures). En 2020 et 2021, j'ai dispensé deux interventions en visioconférence, sur l'épidémiologie moléculaire et l'évolution des populations d'agents pathogènes, des aspects relativement peu enseignés dans les cursus existants. L'évaluation de ce module, réalisé avec Dr Cyrille Zombre de l'INERA, a eu lieu via une session d'exposé par les étudiants (sur des thèmes liés à l'épidémiologie-surveillance des bactérioses des cultures) le 24 Juin 2021 lors de ma mission au Burkina Faso.

Formations organisées

Durant mon affectation à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso), j'ai contribué à l'organisation de plusieurs formations, au cours desquelles je participais aussi souvent en tant qu'intervenante. Les principales ont été les suivantes :

- En septembre 2016, nous avons organisé avec Issa Wonni (INERA) une semaine **d'Initiation à la Biologie Moléculaire, applications au diagnostic et étude de la diversité génétique des agents phytopathogènes** ([+infos](#)). Cette formation était principalement une formation pratique avec la réalisation d'extractions d'acides nucléiques, de PCR et révélation sur gel d'agarose. La formation a rassemblé 12 participants (techniciens et ingénieurs INERA, doctorants ou élèves-ingénieurs).
- Entre 2017 et 2019, nous avons organisé annuellement (trois sessions au total jusqu'alors), avec les autres collègues IRD (spécialistes de la santé), une semaine de

formation à l'**Analyse de données biologiques avec le logiciel R**. Les participants étaient une quinzaine de doctoran.es et jeunes chercheur.es issus des organismes partenaires : IRSS (Institut Régionale en Sciences de la Santé) et INERA.

- En juin 2018, nous avons organisé avec des collègues de l'INERA, de l'Université Nazi Boni et du Cirad, une formation intitulée '**MycoMol**', dans le but de contribuer au renforcement des capacités sur l'utilisation de nouvelles technologies de diagnostic et de caractérisation de la diversité génétique des bioagresseurs fongiques. Une vingtaine de mycologistes ont participé à la formation avec extractions d'acides nucléiques, PCR, révélation sur gel d'agarose et initiation à l'analyse de séquences nucléotidiques.

Encadrement et supervision

J'ai été l'encadrante principale de la thèse de **Mariam BARRO**, inscrite en co-tutelle entre l'université de Montpellier (co-directeur Gilles Bena) et l'université Nazi Boni (co-directeur : Irénée Somda), soutenue le 13 décembre 2021, sur le thème : 'Épidémiologie des maladies majeures et structuration des microbiomes racinaires : étude comparative entre rizicultures irriguée et de bas fond au Burkina Faso'.

Stagiaires de Master :

J'ai encadré 10 stagiaires de Master de différentes universités (l'université de Montpellier est indiquée 'UM'):

- **Feriel GHERNAOUTI**, Master 1 DTECBIO UM, 2020. Thème : Le diagnostic des maladies virales du riz en Afrique. (Stage bibliographique en conséquence du confinement).
- **Kader Abdoul GUIGMA**, Master 2 à l'Université Joseph Ki-Zerbo, 2018-2019. Thème : Co-infection bactéries-champignons chez le riz dans les hauts bassins et les cascades du Burkina-Faso : observations au champ et étude expérimentale.
- **Mariam BARRO**, Master 2, Université Nazi Boni, 2017-2018. Thème : Analyse épidémiologique des communautés de microorganismes pathogènes dans les rizières de la région Ouest du Burkina Faso.
- **Linh Lan AZRIA-LUONG**, Master 1, Bio-INGALE, parcours DTEC-Bio, UM, 2015. Thème : Développement de nouvelles méthodes pour l'étude simultanée de plusieurs maladies du riz en Afrique.
- **Cyrielle NDOUGONNA**, Master 2, Biologie des Plantes et des Micro-organismes, Biotechnologies, Bioprocédés, UM, 2015 Thème : Interactions entre les mécanismes moléculaires induits lors de l'infection du riz par le virus de la panachure jaune (*Rice yellow mottle virus, RYMV*) et la bactérie *Xanthomonas oryzae (Xo)*
- **Fatoumata GNACKO**, Master 1, Biologie des Plantes, UM, 2014. Thème : Co-infections virus/bactérie chez le Riz et mécanisme de RNA silencing.

- **Benoit PERNECHELE**, Master 2, Université de Namur, 2012. Thème : Assessing the role of the mycoparasite *Ampelomyces* in its host's population dynamics in Åland archipelago metapopulation through the development of a molecular detection test
- **Stéphanie JACQUET**, Master 1, Ecologie et Evolution des parasites, UM, 2010. Thème : Identification de gènes potentiellement impliqués dans la résistance à la peste chez le rat noir (*Rattus rattus*) à Madagascar.
- **Svilena IVANOVA**, Master 1, Écologie et Évolution des Parasites, UM 2009. Thème : Sélection dur des loci liés au MH (Complexe Majeur d’Histocompatibilité) et résistance à la peste chez le rat noir (*Rattus rattus*) à Madagascar.
- **Sandrine KAKO-OURAGA**, Master 1, Ecologie et Evolution des parasites, UM, 2008. Thème : Etude des différences génétiques potentiellement impliquées dans l’interaction rongeurs/pathogènes.

En outre, j’ai encadré un certain nombre de stagiaires ‘pré-Master’ (licence 3, DUT etc.).

Autres formes de supervision/mentorat:

Je supervise une partie du travail (>50%) de l’**ingénieure d’étude (IE) Martine BANGRATZ** depuis septembre 2017. Son travail porte sur le diagnostic sérologique et moléculaire des agents pathogènes du riz, et l’étude de leur diversité génétique. Elle utilise le diagnostic ELISA, les techniques de biologie moléculaire classique (extractions d’ADN et ARN, PCR, RT-PCR), ainsi que depuis récemment le séquençage de 3^{ème} génération par Oxford Nanopore Technologie (ONT).

Dans le cadre du projet ANR EVCOPAR (voir la liste des projets de recherche p06), je supervise le travail **post-doctoral d’Estelle BILLARD** qui travaille depuis septembre 2021 et pour deux ans, ainsi que les expérimentations menées par **Phonsiri SAENGRAM**, recrutée comme **technicienne** en biologie moléculaire pour le projet EVCOPAR, pour une durée de 18 mois.

Enfin, je suis aussi impliquée dans la direction de travaux menées par **Aurore COMTE**, ingénieure en bioinformatique, et **Emilie THOMAS**, assistante technique pour les expérimentations végétales en conditions contrôlées.

Travaux scientifique

Préambule / Contexte

J'ai été initiée à la recherche lors de deux stages courts (environ 2 mois) au Laboratoire d'Ecologie Alpine ([LECA](#)) à Grenoble, puis au Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive ([CEFE](#)) à Montpellier (voir p02), mais mon expérience de chercheuse a réellement commencé à Montferrier-sur-Lez, au Centre de Biologie pour la Gestion des Populations ([CBGP](#)). J'y ai été accueillie pour mon stage de Master 2, encadrée par Nathalie Charbonnel (INRAE), où j'ai étudié les relations entre cortège parasitaire (helminthes gastro-intestinaux et virus notamment) et gènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) chez le campagnol terrestre (*Arvicola scherman*) dans le Jura. Les résultats montrent (1) des signaux de sélection balancée sur un gène, (2) une association entre certains allèles et la présence d'un nématode, et (3) une association entre hétérozygotie et réponse immunitaire (**Publications 1 et 4** de la liste des publications p07-09).

J'ai poursuivi par une thèse (suivie d'une année d'ATER) portant toujours sur les rongeurs et leurs parasites, mais cette fois avec un modèle biologique tropical, le rat noir, réservoir de la peste à Madagascar. Cette thèse était encadrée par Jean-Marc Duplantier et Carine Brouat (IRD), et réalisée en collaboration avec l'Institut Pasteur de Madagascar ([IPM](#)) où j'ai effectué trois missions de un à deux mois chacune. Une partie de mes travaux a recherché à décrire les voies de colonisation de l'île de Madagascar par le rat noir par des approches de phylogéographie et de génétique des populations. Nous avons montré que la structure génétique neutre du rat noir à Madagascar et dans l'ouest de l'Océan Indien est cohérente avec l'hypothèse d'une introduction unique de cette espèce à Madagascar, probablement il y a 1000 à 2000 ans à partir de populations d'Oman, avec une colonisation commençant par les régions côtières de l'île, puis étendue aux hauts plateaux centraux, tandis que les îles voisines connaissent des histoires bien différentes (**Publications 5 et 12**). Ensuite, nous avons étudié le comportement des rats issus de zones endémiques ou non-endémiques face à la peste. Nos résultats montrent que les populations situées dans la zone de peste, au niveau des hauts plateaux centraux, sont beaucoup plus résistantes à la peste que les populations de la zone sans peste, et qu'un polymorphisme pour la résistance existe dans la zone de peste (**Publication 3**). Enfin, j'ai cherché des marqueurs génétiques associés à la résistance à la peste et potentiellement sous sélection dans la zone de peste, par deux approches : l'approche gène candidat, et l'approche génomique sans a priori. Nous avons ainsi montré une association entre le phénotype de résistance et un allèle du gène CCR5 (**Publication 2**), ainsi que des patrons de différenciation génétique entre zone de peste et zone sans peste plus fort que l'attendu pour un marqueur génétique associé au CMH (**Publication 7**). Enfin, l'approche génomique a permis d'identifier des marqueurs génétiques sous sélection en zone de peste,

et associés au phénotype de résistance ; ces marqueurs sont donc supposés être en déséquilibre de liaison avec des gènes impliqués dans la résistance à la maladie, et nous avons notamment identifié dans leur voisinage génomique des gènes codant pour des interleukines (**Publications 6 et 9**).

J'ai poursuivi ma carrière avec un post-doctorat de deux ans à l'Université d'Helsinki (Finlande), au Metapopulation Research Center ([MRC](#)), sous la supervision d'Anna-Liisa Laine. C'est alors que j'ai commencé à travailler sur les maladies des plantes, avec pour problématique la dynamique en métapopulation de *Podosphaera plantaginis*, agent de l'oïdium du plantain lancéolé sur l'archipel d'Åland (situé entre la Suède et la Finlande). Ce système commençait à devenir un modèle pour l'épidémiologie et évolution des interactions plantes-agents pathogènes avec des études de dynamique épidémiologique [1, 2], adaptation locale [3, 4] et facteurs affectant la résistance [5, 6]. J'ai débuté le travail par la mise au point de marqueurs moléculaires pour ce champignon, afin offrir une possibilité de traçage des souches utilisées, et de réaliser des études de génétique des populations. En outre, notre approche de génotypage directement sur feuille infectée a permis d'évaluer les niveaux de co-infection d'une feuille par plusieurs génotypes de champignon (**Publication 8**). Par ailleurs, le type de reproduction de cette espèce n'avait jamais été caractérisé en dépit de son intérêt en termes de diversité génétique mais aussi de cycle de vie (passage de l'hiver). Nous avons montré la capacité de *P. plantaginis* à produire des structures de reproduction et de survie hivernale (chasmothèces) même en culture de génotype unique, avec une production de chasmothèces dépendant de l'interaction entre température et génotype du champignon (**Publication 10**).

Au niveau épidémiologique, j'ai participé à une étude analysant les observations de terrain réalisées pendant 12 ans dans 4 000 sous populations de plantain, confirmant la dynamique de métapopulation (fréquente extinctions et recolonisations des sous-populations de plantain par le champignon) et révélant des fréquences d'infection plus faibles dans les populations de plantain bien connectées géographiquement aux autres, en conséquence de niveaux de résistance plus élevées (**Publication 14**). En outre, au niveau épidémiologique toujours, mais cette fois à petite échelle spatiale (au sein de chaque sous population), j'ai participé à l'application d'une nouvelle méthode d'analyse statistique, visant à évaluer la performance de différents génotypes sur la base d'observation de symptômes sur le terrain et de données de génotypage (**Publication 13**).

Enfin, j'ai évalué l'impact d'un hyperparasite, le champignon *Ampelomyces*, sur la dynamique de la métapopulation. Pour cela, j'ai mis au point une méthode de détection (qPCR) de cet hyperparasite et montré que sa prévalence était corrélée négativement avec la survie hivernale de l'agent pathogène fongique (**Publication 11**).

Mon recrutement à l'IRD en décembre 2012 a été réalisé dans l'objectif de développer des approches « multi-pathogènes » chez le riz cultivé en Afrique de l'Ouest, dans l'équipe de Christophe Brugidou. J'ai été affectée dans l'UMR RPB, qui a évolué en UMR IPME en 2015, où plusieurs chercheurs sont spécialistes de chacune des principales maladies du riz (notamment le RYMV, les bactérioses à *Xanthomonas oryzae* et les nématodes) et mon objectif a été de développer des approches intégratives sur les différentes maladies, en prenant en compte la coexistence de ces maladies localement et les conséquences de la co-infection. La réflexion sur cette thématique en post-doc et au début de mon recrutement m'a conduit à rédiger un article de revue sur les conséquences évolutives et épidémiologiques des infections multiples chez les plantes (*Publication 15*).

Ces recherches sont menées en Afrique de l'Ouest et notamment au Burkina Faso, où l'IRD entretient des relations de partenariat de longue date avec l'INERA (Institut National de l'Environnement et de Recherches Agricoles) formalisé à partir de 2013 en Laboratoire Mixte International (LMI) [Patho-Bios](#) (Observatoire des Agents Phytopathogènes en Afrique de l'Ouest : Biodiversité et biosécurité). Ainsi, je travaille en partenariat avec l'INERA depuis mon recrutement à l'IRD, avec un renforcement des liens pendant mon expatriation à Bobo-Dioulasso (Burkina Faso) entre 2015 et 2019. Mes partenaires principaux sont Issa Wonni, bactériologiste, Abalo Itolou Kassankogno, mycologiste, et Drissa Sérémé, virologiste.

Depuis janvier 2021, l'UMR IPME est devenue UMR [PHIM](#) (Plant Health Institute of Montpellier), au sein de laquelle j'appartiens à l'équipe [VICITA](#) (Interactions Virus/Céréales dans les Agroécosystèmes Tropicaux) dirigée par Eugénie Hébrard, dans le pôle VIROM.

De façon générale, mon travail utilise différentes approches complémentaires pour répondre à des questions biologiques dans le vaste domaine de la biologie évolutive et l'écologie moléculaire des interactions hôtes/pathogènes. L'objet de ce présent mémoire porte principalement sur les recherches menées sur le riz depuis mon recrutement à l'IRD (*Publications 16, 17, 18, 19*, dont les résultats ont détaillés dans la suite du document).

[Les études menées en post-doctorat sont aussi mentionnées lorsqu'elles sont associées à des questions de recherche communes. Ces aspects portant sur un autre modèle biologique apparaissent en bleu dans le texte, ainsi que les publications associées.](#)

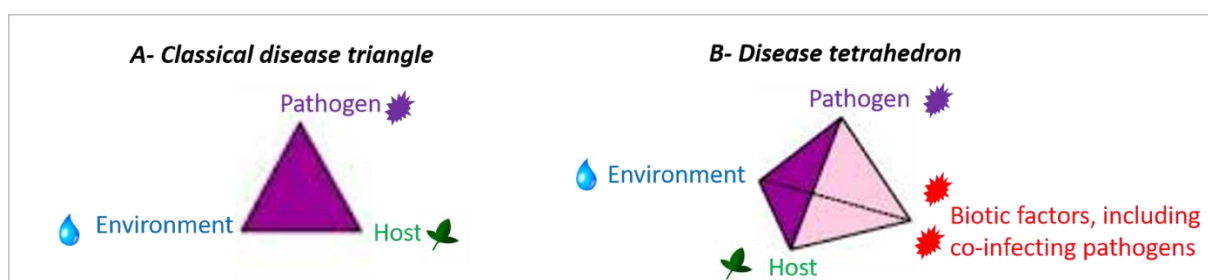
Questions de recherche

Mes objectifs de recherche visent à intégrer l'étude des maladies des plantes dans l'agro-écosystème, avec une vision intégrée de la dynamique des populations d'agents pathogènes incluant différents facteurs les affectant, et en particulier leur environnement biotique.

En effet, l'épidémiologie des maladies est gouvernée par de nombreux facteurs. Une vision conceptuelle classique en phytopathologie est celle du 'triangle de la maladie' (**Figure 1**), montrant l'importance de la population de plantes hôtes, la populations d'agents pathogènes, et l'environnement, ce dernier étant classiquement composé surtout des facteurs abiotiques (température et pluviométrie notamment), ainsi que des vecteurs et plantes réservoirs connues [7]. En outre, pour les maladies des plantes cultivées, l'environnement est affecté par l'homme à travers les pratiques culturales (itinéraires de fertilisation, rotations par exemple). Plus récemment, commence à être pris en compte la composante biotique de l'environnement, avec les autres organismes pathogènes et non –pathogènes potentiellement interagissant et affectant l'issue de la maladie, ce qui forme un 'tétraèdre' de la maladie [8] (**Figure 1**).

En effet, par exemple, certaines bactéries produisent des composés volatiles modulant le phénotype des agents pathogènes : par exemple l'oomycète *Phytophthora infestans*, causant la maladie la plus importante de la pomme de terre, voit sa croissance mycélienne et sporulation fortement affectées par des composés volatiles émis par les bactéries de la rhizosphère ou phyllosphère de la plante [9]. Ces interactions peuvent être complexes, tel que par exemple chez le haricot *Phaseolus lunatus*, l'infection par *Pseudomonas syringae* est inhibée par un champignon endophyte si celui-ci colonise la plante avant la bactérie, mais au contraire facilitée en cas d'ordre d'arrivée inverse [10].

Figure 1: D'une approche classique du triangle de la maladie (A) vers le concept de tétraèdre de la maladie (B), incluant les facteurs biotiques pouvant affectant l'issue de l'interaction entre hôte et agents pathogènes. Cet environnement biotique comprend les autres agents pathogènes infectant simultanément le même hôte.



Adapté à partir de Brader et al (2017) *Annual Review of Phytopathology* [8]

Cette démarche est proche de celle du 'pathobiome' [11, 12] qui propose de caractériser l'environnement biotique d'un hôte, car les altérations de la santé d'un individu peuvent ne pas être seulement dus à la présence d'un agent pathogène, mais de l'interaction entre plusieurs organismes associés à l'hôte et interagissant entre eux et avec leur hôte. Par exemple, les umbravirus, contrairement à la plupart des virus de plante, ne peuvent pas être transmis directement par les pucerons, sauf en cas de co-infection avec un autre virus de la famille des Luteoviridae (phénomène appelé 'helper dependence') [13].

Aussi, nous avons vu précédemment qu'une maladie peut être fortement modulée par la présence d'un autre organisme présent au sein du même hôte. Ces deux contextes nous poussent à dépasser le paradigme '*un agent pathogène -> une maladie*' pour aller vers une démarche plus holistique. C'est ce qui est proposé par ce concept de pathobiome, utilisé à la fois pour les interactions entre pathogènes animaux et plantes. Chez les plantes, a été en outre introduit le concept de 'phytobiome', qui inclut la plante elle-même, son environnement ainsi que tous les organismes (micro- et macro-) vivant dans, sur, ou au voisinage de la plante [14].

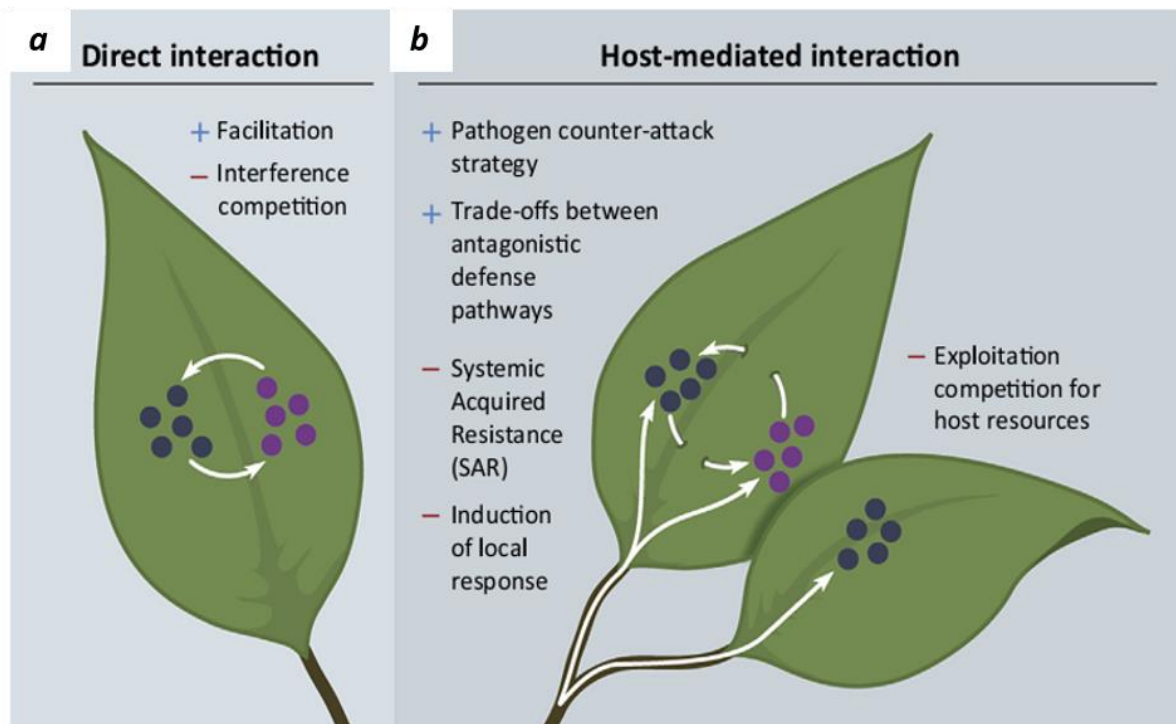
La caractérisation des phytobiomes a pris son essor grâce au développement de techniques de séquençage permettant de caractériser des métagénomes, c'est-à-dire de séquencer simultanément des génomes ou parties de génomes de plusieurs espèces ('métagénomique'). L'augmentation drastique des recherches caractérisant les microbiomes permet de s'approcher de l'extrême diversité des micro-organismes associés aux plantes [15, 16], invisible mais partie intégrante de la biodiversité, et qui a des conséquences importantes sur la croissance des plantes et sa résistance aux facteurs abiotiques [17, 18], mais aussi sur le développement des maladies [19]. En particulier les microbiotes associés aux racines contiennent des micro-organismes augmentant la résistance des plantes aux agents pathogènes, telles que les rhizobactéries *Bacillus* contre le *Cucumber mosaic virus* chez la tomate [20], ou encore des *Streptomyces* contre la pyriculariose du riz [21]. Ainsi, l'effet du microbiome sur la santé des plantes et l'importance de la prise en compte des communautés microbiennes de la plante pour expliquer les infections sont des thématiques de recherche nouvelles et très importantes de par leurs applications en protection des cultures [22-24].

Parmi les micro-organismes pouvant entrer en interactions au sein d'une plante hôte, nous nous intéressons particulièrement au cas où deux espèces, ou bien deux génotypes, infectent simultanément une même plante, ce que l'on définit comme un contexte de co-infection, ou infection multiple.

Ce contexte de co-infection peut affecter l'issue de l'infection, en termes de symptômes, et de multiplication intra-plante de la population d'agent pathogène [25-27]. C'est un phénomène très étudié chez les virus [28], où de telles interactions ont été étudiées historiquement, par exemple le synergisme entre le Potato virus Y (PVY) et le Potato virus X (PVX), où la co-infection conduit à une augmentation des symptômes et une multiplication jusqu'à dix fois du taux de PVX [29].

De tels effets de la co-infection peuvent être dus à une diversité de types d'interactions directes (**Figure 2a**) ou indirectes (**Figure 2b**). Des micro-organismes produisant des composés secondaires inhibant un autre agent pathogène sont un exemple d'interaction négative par compétition, avec par exemple *Fusarium* synthétisant un composé qui réduit l'infection par le feu bactérien chez la tomate [30]. A l'inverse, la facilitation mécanique est une interaction positive directe, telle que par exemple l'ascomycète *Didymella*, qui facilite le transport de bactéries co-infectant des cucurbitacées [31], ou encore la facilitation entre deux souches de virus de la tomate, l'une d'elle ne se maintenant dans la plante qu'en présence de l'autre [32]. Les interactions intra-plante entre agents pathogènes ne se restreignent pas aux organismes infectant les mêmes tissus de la plante. Par exemple, un synergisme a été montré entre deux virus, l'un étant restreint au phloème et l'autre absent de ce tissu [33]. Un autre exemple est la diminution de la multiplication d'un nématode racinaire après inoculation foliaire par un virus du soja [34]. Les agents pathogènes peuvent en effet interagir de manière indirecte, car ils partagent une même ressource (la plante hôte), ou parce qu'ils sont ciblés par le même système immunitaire de la plante [35]. Les mécanismes de contre-défense développés par chacun des agents pathogènes peuvent interagir pour conduire à un synergisme, tel que dans le cas des virus PVY et PVX, cités ci-dessus, qui fait intervenir la suppression du RNA silencing post-transcriptionnel par HC-Pro [36, 37].

Figure 2: Mécanismes d'interactions intra-plante entre plusieurs espèces ou génotypes d'agents pathogènes



La séquence des infections (effet de l'ordre de l'infection par chacun des agents pathogènes et du délai entre infections), ainsi que les organes de la plante où commence l'infection, ont

souvent un effet sur l'issue de la co-infection [27, 38, 39], ce qui peut renseigner sur les mécanismes mis en jeu.

Ces phénomènes ne se réduisent pas aux interactions entre la plante et deux micro-organismes, un plus grand nombre d'acteurs peut aussi entrer en jeu. Ainsi, des interactions faisant intervenir les insectes vecteurs ont été mis en évidence chez la courge : l'infection bactérienne à *Erwinia* est plus rare chez les plantes déjà infectées par le virus ZYMV, car les vecteurs d'*Erwinia* préfèrent visiter les plantes saines que les plantes virosées [40]. Un autre exemple concerne l'effet d'un champignon endophyte, non pas sur l'une des infections simples par l'un des deux champignons phytopathogènes étudiés, mais sur l'interaction entre ces deux agents pathogènes chez l'ivraie [41].

Enfin, la complexité de ces interactions comprend aussi la disponibilité des ressources. Ainsi, chez l'avoine, exposée à trois espèces virales différentes, les niveaux d'infection en cas de mono-inoculation n'étaient pas significativement affectés par les niveaux d'azote et de phosphore, tandis que le résultat des infections multiples dépendaient des ressources disponibles [42].

Dans ce contexte, l'objectif de mes recherches est, au sens large, une meilleure compréhension de la dynamique des maladies des plantes dans les agro-écosystèmes. De façon 'classique', cela prend en compte la caractérisation de la diversité génétique des plantes hôtes et des populations de pathogènes, mais aussi la caractérisation de l'environnement abiotique, y compris les pratiques culturales. En outre, la dimension de l'environnement biotique est aussi abordée avec la caractérisation conjointe de plusieurs maladies, la description de microbiomes associés aux racines, et l'étude de l'effet de la co-infection sur l'issue de l'infection.

Article de revue associé

Tollenaere, C.; Susi, H.; Laine, A.L. Evolutionary and Epidemiological Implications of Multiple Infection in Plants. *Trends in Plant Science* **2016**, *21*, 80-90, doi:10.1016/j.tplants.2015.10.014.

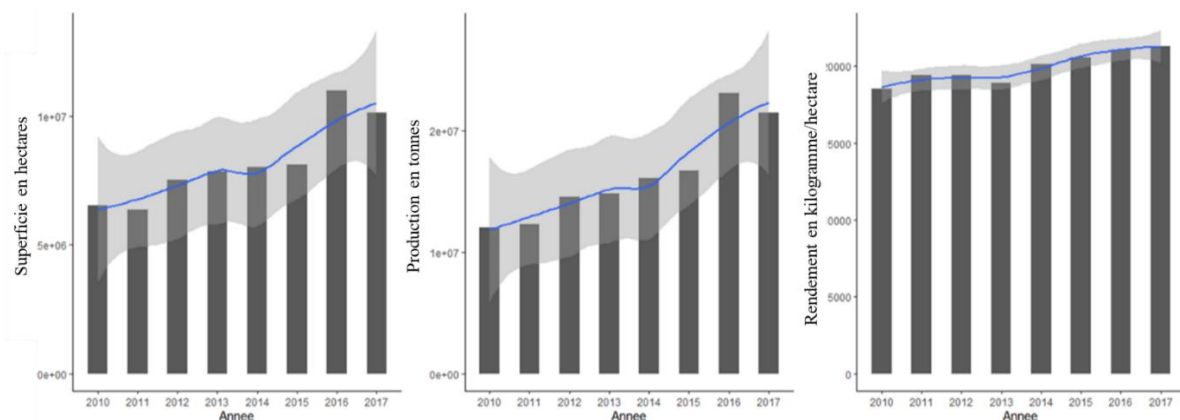
Modèle biologique : le riz et les maladies du riz en Afrique de l'Ouest

Le riz est la céréale la plus consommée au monde et l'aliment de base de plus de la moitié de l'humanité, notamment dans les pays du Sud [43, 44], avec plus de 3.5 milliards de personnes dépendant du riz à hauteur de plus de 20% de leur régime quotidien [43]. En 2020, la production mondiale du riz paddy était de 756 743 722 tonnes (FAOStat, 2022), dont environ 90% est produit en Asie [45], un continent qui exporte le riz dans le monde entier.

En Afrique de l’Ouest, le riz représente 25% de la consommation globale de céréales [46]. Entre 2009 et 2019, la consommation en riz a connu une augmentation annuelle de 8.1% [47], en conséquence de l’augmentation de la population et du changement des habitudes alimentaires (préférence pour des aliment faciles à préparer, en conséquence du changement des habitudes liés à l’urbanisation). Cette augmentation de la demande est telle que 46% du riz consommé a été importé sur la période 2009-2019 [47]. Les conséquences de ces importations sont les prix exorbitants et une dépendance alimentaire.

En réponse, les gouvernements ont adopté des politiques volontaristes d’augmentation de la production rizicole, notamment avec l’aménagement de nombreux bas-fonds et un effort d’intensification. La production annuelle de riz en Afrique de l’Ouest est de 10.1 millions de tonnes sur la période 2009–2019 [47] et l’augmentation annuelle de la production sur cette même période est de 10% [47] (**Figure 3**). Cette augmentation de la production est principalement due à une augmentation de la superficie cultivée en riz, les rendements n’augmentant que faiblement (**Figure 3**).

Figure 3: Dynamique de la production de la superficie, de la production et du rendement rizicole en Afrique de l’ouest



Source : FAO (2018) <https://www.fao.org/faostat/fr/>

Au Burkina Faso en particulier, les surfaces cultivées en riz ont été multipliées par trois entre 2006 et 2016 (FAO), notamment grâce à l’aménagement de nouveaux bas-fonds. En effet, le riz est cultivé au Burkina Faso dans trois types de riziculture [48, 49]:

- 1) La riziculture irriguée, avec maitrise total de l’eau. Celle-ci se fait dans les périmètres irrigués, des infrastructures couteuses introduites dans les années 60s, restreintes à des sites particuliers (<30% des surfaces) mais très productifs, avec un rendement de 4 à 7 tonnes/hectare, conduisant ce type de riziculture à produire plus de la moitié du riz du pays ;
- 2) La riziculture de bas-fonds, qui sont de petites vallées retenant l’eau (avec plus ou moins d’aménagements pour la contrôler), représentant environ 67% des surfaces cultivées en riz, les rendements y sont faibles (2 tonnes/hectares), expliquant que les bas-fonds ne représentent que 39% de la production rizicole globale ;

- 3) La riziculture pluviale, qui ne peut être entreprise que dans les zones les plus arrosées du pays, et ne représente qu'une petite proportion de la production rizicole et des surfaces cultivées en riz.

Deux espèces de riz cultivé existent : (1) *Oryza sativa* L., dit 'riz asiatique', domestiqué il y a 8000 à 10.000 ans, de manière indépendante en Chine et en Inde, dont sont issus plusieurs sous-groupes génétique, dont les riz *indica* et *japonica* [50], et (2) *Oryza glaberrima* Steud. dit 'riz africain', domestiqué dans le Nord du Mali et dont l'expansion de la culture a eu lieu il y a 2 000 ans environ [51]. Aujourd'hui devenu rare, *O. glaberrima* reste cultivé en dépit de son faible rendement, dans de rares zones où la culture de *O. sativa* est impossible (trop d'eau par exemple), ou dans des contextes culturels particuliers (cérémonies) [52]. La résistance d' *O. glaberrima* à certains stress biotiques et abiotiques a cependant conduit à l'utilisation de son génome pour créer des variétés issues de croisement entre *O. sativa* et *O. glaberrima* , notamment les NERICA (*New Rice for Africa*) mis au point par AfricaRice [53-55].

Les changements récents au niveau de la riziculture burkinabè, incluant une augmentation des surfaces cultivées en riz, et une intensification de la riziculture, sont associés à un risque accru d'épidémies des nombreuses **maladies du riz**, qui ont un impact très négatif sur les rendements. En effet, les pertes de rendement dues aux agents pathogènes et autres bio-agresseurs, chez le riz, ont été estimées à 30% à l'échelle mondiale, et serait comparable ou supérieure en Afrique subsaharienne [56]. A l'échelle mondiale, un grand nombre de maladies ont été caractérisées chez le riz, recensées dans l'ouvrage de référence *Compendium of Rice Diseases* [57].

En Afrique en particulier, les maladies majeures généralement citées sont la pyriculariose, due au champignon *Pyricularia oryzae* (Mo), la panachure jaune du riz, due au *Rice yellow mottle virus* (RYMV) et la bactériose vasculaire, due à *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae* (Xoo) [58]. Ces maladies sont connues pour causer des dégâts importants dans les rizières et donc des pertes de rendement significatifs. Par exemple, l'infection par le RYMV peut aller jusqu'à la stérilité voire la mort de la plante chez les variétés très sensibles, conduisant ainsi à des pertes sévères, estimées entre 20 et 100% [59]. En plus de ces trois maladies classiquement connues comme majeures, deux maladies sont fréquentes dans les rizières et parfois considérées comme émergentes : l'helminthosporiose, due au champignon *Bipolaris oryzae* (Bo) [60], et la bactériose à stries foliaires, due to *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzicola* (Xoc) [61].

Une vision intégrée des différentes maladies et de l'ensemble de l'agro-système est nécessaire pour contribuer à la protection intégrée des cultures rizicoles en Afrique de l'Ouest.

1. Estimation des niveaux de co-infection, et de l'effet de la co-infection sur les symptômes et la multiplication intra-plante

Nous avons étudié l'issue de la co-infection entre deux agents pathogènes infectant le riz au Burkina Faso : le virus RYMV et la bactérie *Xoc*, avec une approche partant d'observations au champ pour aller vers les mécanismes moléculaires au laboratoire.

Tout d'abord, une étude de terrain a été réalisée en 2015 au Burkina Faso, dans trois sites d'étude, afin d'évaluer la fréquence des champs infectés par les deux maladies et la prévalence des co-infections dans ces champs. Une proportion significative de champs a présenté les deux maladies (panachure jaune et bactériose à stries foliaires translucides), avec jusqu'à 58% des parcelles étudiées dans le périmètre irrigué de Banzon. Au sein des parcelles, le pourcentage de plantes co-infectées (à la fois positive en ELISA spécifique du RYMV et PCR multiplex détectant *Xo*) atteignait $6/16 = 37.5\%$ dans deux parcelles de Banzon.

Expérimentalement, nous avons montré que 1) la co-infection par le RYMV conduit à une augmentation des symptômes spécifiques de la bactériose à stries foliaires et 2) la co-infection par la bactérie *Xoc* réduit la charge virale intra-plante, par rapport au témoin mono-inoculé (*Figure 4*).

Cet effet négatif de la bactérie sur le virus existe seulement pour certains isolats viraux (voir *Figure 4b* effet sur l'isolat de Tanzanie Tz11 mais pas celui de Madagascar Mg1). Des effets génotype-spécifique pour la co-infection peuvent avoir des conséquences évolutives importantes : si le génotype favorisé dépend de la présence/absence et diversité génétique de l'autre espèce d'agent pathogène en co-infection, la sélection naturelle conduira au maintien de la diversité génétique au sein des populations [62]. Cependant, comme ces données ne montrent des effets spécifiques des génotypes que pour des isolats originaires de pays différents, donc n'étant pas susceptibles d'interagir dans les agrosystèmes, les implications potentielles en termes d'évolution des populations d'agents pathogènes n'avaient pas pu être réellement inférées.

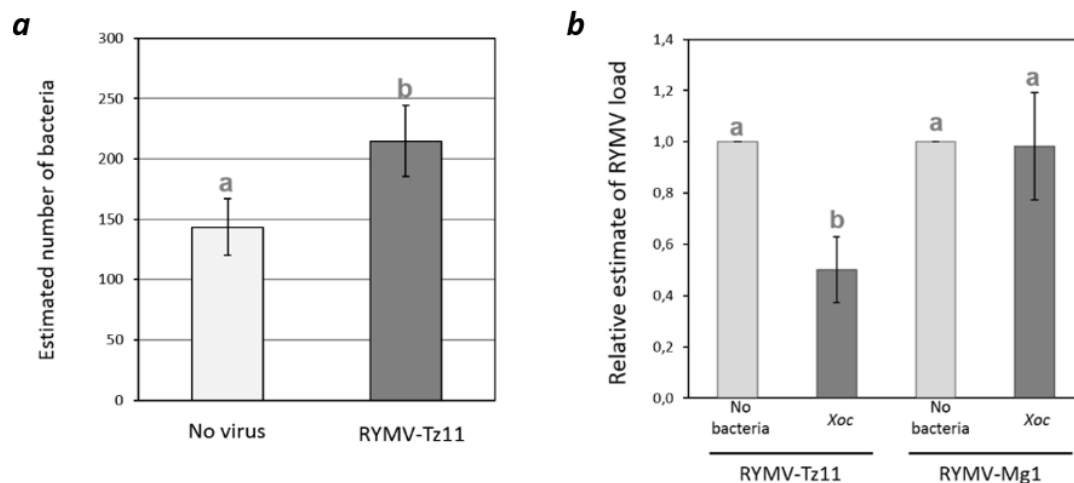
Enfin, une collaboration avec Séverine Lacombe et Sébastien Cunnac a permis de remarquer que la protéine HEN1 importante dans la défense de la plante contre le virus RYMV (silencing antiviral, [63]) voyait sa transcription induite par l'effecteur bactérien Tal1C, avec des conséquences sur les symptômes induits [64]. Nous avons ainsi testé l'hypothèse d'une implication des mécanismes de RNA silencing dans ces interactions mises en évidence en contexte de co-infection. Les résultats montrent qu'une souche bactérienne mutant ne produisant pas l'effecteur Tal1C, et donc n'induisant pas la transcription du gène *OsHen1*, perd son effet négatif sur la charge virale en RYMV. Ainsi, l'effet de la bactérie *Xoc* sur le virus RYMV est affecté par l'effecteur Tal1C suggérant une implication des mécanismes de RNA silencing dans l'interaction RYMV-*Xoc*. Les perspectives de ce travail vers la compréhension

des mécanismes moléculaires intervenant en contexte de co-infection sont en cours d'étude complémentaire par Séverine Lacombe et Sébastien Cunnac.

Figure 4: Interactions réciproques mises en évidence sur le riz co-infecté par le *Rice yellow mottle virus* (RYMV) et *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*).

a. Quantité de bactéries *Xoc* (estimée par PCR quantitative spécifique) en mono-infection (gris clair), comparé au contexte de co-infection avec RYMV (gris foncé)

b. Charge virale en RYMV (estimée par q-RT-PCR spécifique) en mono-infection (gris clair), compare au cas de co-infection avec *Xoc* (gris foncé), et pour deux isolats viraux différents (Tz11 et Mg1).



Les niveaux de co-infection avaient été estimés pour les infections multiples entre plusieurs génotypes de champignon pathogène responsable de l'oïdium du plantain sur l'archipel d'Åland. Pour ce faire, des outils de génotypage SNP (Single Nucleotide Polymorphism, 27 loci) ont été utilisés directement sur les feuilles symptomatiques (sans étape d'isolement), avec 380 échantillons analysés, répartis dans 80 populations. Le champignon *P. plantaginis* étant haploïde, on attend des allèles uniques pour chaque locus en cas d'infection simple, tandis que la présence de deux allèles indique un cas de co-infection. C'était le cas pour 110 échantillons analysés, d'où la fréquence de 28.9% de feuilles symptomatiques correspondant à une infection multiple.

Publications associées

[Tollenaere, C.; Lacombe, S.; Wonni, I.; Barro, M.; Ndougona, C.; Gnacko, F.; Sereme, D.; Jacobs, J.M.; Hebrard, E.; Cunnac, S.; Brugidou C. Virus-Bacteria Rice Co-Infection in Africa: Field Estimation, Reciprocal Effects, Molecular Mechanisms, and Evolutionary Implications. *Frontiers in Plant Science* **2017**, *8*, doi:10.3389/fpls.7.00645.](#)

[Tollenaere, C.; Susi, H.; Nokso-Koivisto, J.; Koskinen, P.; Tack, A.; Auvinen, P.; Paulin, L.; Frilander, M.J.; Lehtonen, R.; Laine, A.-L. SNP Design from 454 Sequencing of *Podospaera plantaginis* Transcriptome Reveals a Genetically Diverse Pathogen Metapopulation with High Levels of Mixed-Genotype Infection. *Plos One* **2012**, *7*, doi:10.1371/journal.pone.0052492.](#)

2. Dynamique spatio-temporelle des agents pathogènes de plantes

Lors de mon expatriation, j'ai contribué à mettre en place un suivi épidémiologique multi-pathogènes dans les rizières proches de Bobo-Dioulasso sur la période de 2016 à 2019. Dans trois zones d'études (Bama, Banzon et Karfiguela, *Figure 5*), nous avons comparé un site de riziculture irrigué et un site de bas-fonds voisin (moins de 8kms entre les parcelles les plus distantes de chaque zone).

Dans chacun des six sites, entre 5 et 11 parcelles sont été étudiées annuellement avec notamment : **1)** une enquête auprès du producteur visant à caractériser les pratiques culturales et **2)** une visite au stade de croissance du riz « maximum tallage », avec observation des symptômes et échantillonnage (protocole représenté *Figure 5e*).

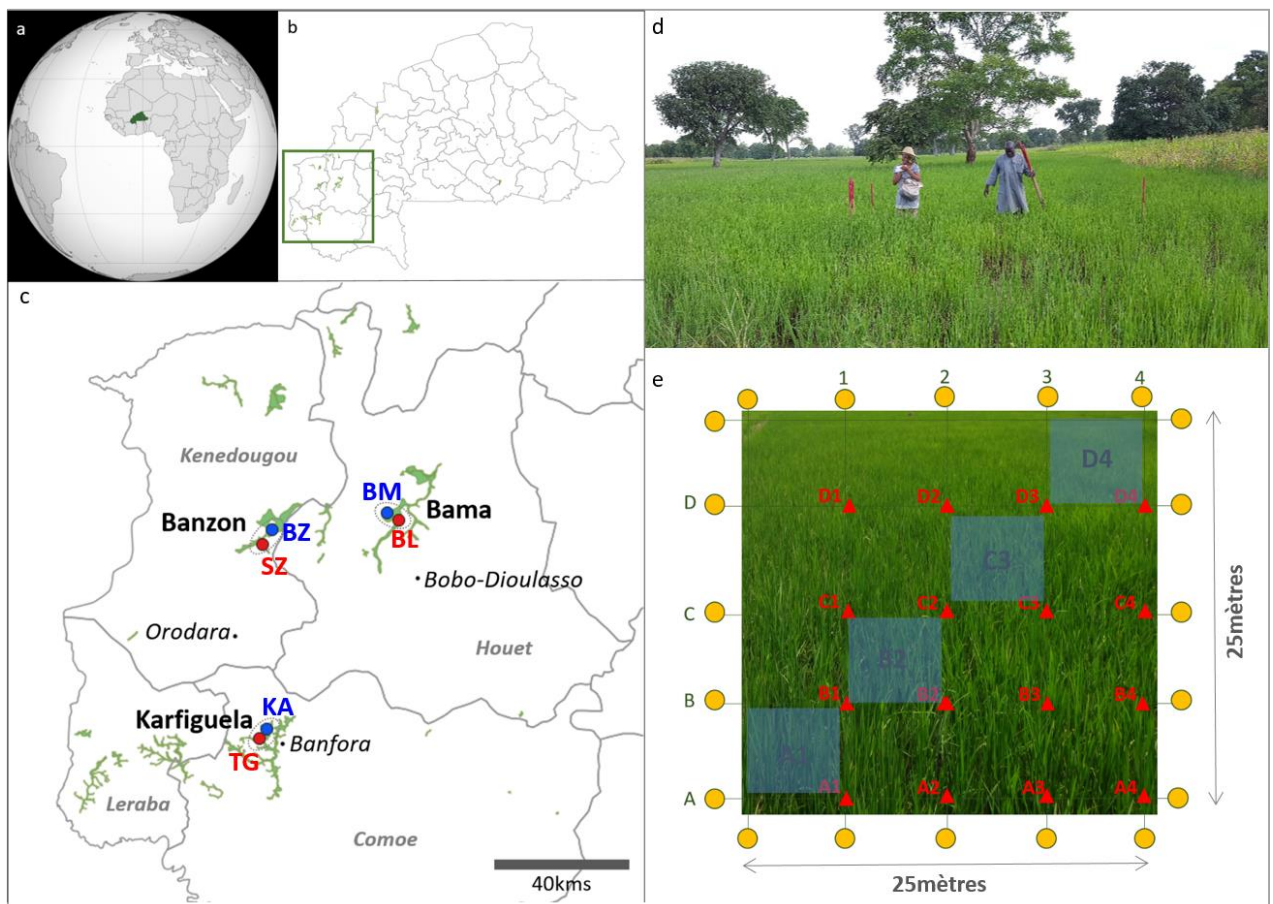
Cette démarche de terrain était originale par rapport aux études passées (voir cependant de rares études en Asie comme [65, 66]), notamment par: 1) le fait de travailler simultanément sur plusieurs maladies, avec l'observation des différents types de symptômes, approche « multi-pathogène », 2) le suivi pluri-annuel de parcelles initialement choisies aléatoirement, ce qui permet d'inférer des données telles que le pourcentage de parcelle présentant un type de symptôme au sein d'un périmètre, ou encore, des valeurs d'incidence moyenne.

En plus du suivi des symptômes, un travail d'enquêtes auprès des riziculteurs (143 enquêtes au total 2016-19) a permis de caractériser les différences de pratiques culturales entre périmètres irrigués et bas-fonds non aménagés. Ces informations, de même que les données d'observations de symptômes, ont été saisies sur smartphone, avec l'aide de l'entreprise AfricaSys.

Les résultats des enquêtes montrent que la fertilisation minérale est toujours pratiquée en riziculture irriguée, tandis que qu'elle est fréquente, mais non systématique (70%), dans les bas-fonds. Le repiquage est systématique tandis qu'il est rare (12%) en bas-fonds (semis direct). Enfin, la double saison de riziculture n'est possible que dans les périmètres irrigués (où elle est réalisée dans 46% des cas). Des différences entre site au sein des systèmes de riziculture sont aussi mises en évidence. Ainsi le bas-fonds de Karfiguela (site de Tengrela), où la riziculture est menée par des femmes, apparaît comme particulièrement peu intensif, utilisant particulièrement peu la fertilisation minérale (33%), mais fréquemment la fertilisation organique (46% tandis qu'elle n'est que de 16% sur l'ensemble du jeu de données), et où les productrices n'ont cité aucune variété homologuée (voir p33). Le bas-fonds de Bama (site de Badala) est lui particulier en terme de rotation avec une fréquence élevée de culture de légumineuses en contre-saison (62% des interviews, tandis que ce n'est que 30% en général dans les trois bas-fonds contre 9% en irrigué).

Figure 5 : Echantillonnage dans six sites d'étude réalisé entre 2016 et 2019

- Localisation du Burkina Faso, en vert, en Afrique
- Localisation de la région étudiée (encadrée en vert, dans les quatre provinces de la Comoé, le Houet, le Kenedougou et Leraba) au sein du Burkina Faso
- Localisation des six sites d'étude : en rouge les bas-fonds et en bleu les périmètres irrigués. Le fond de carte montre en vert les zones rizicoles selon la base de données d'occupation des sols : www.ignfi.fr/fr/portfolio-item/occupation-des-terres-burkina-fao/
- Photo d'une parcelle en cours d'observation (21/09/2018 , site de Senzon, <https://multimedia.ird.fr/IRD/media/75252>)
- Protocole d'observations des symptômes et de collecte d'échantillons au sein de chaque parcelle. Les quadrats en bleu font l'objet d'observations avec une estimation de la prévalence de chaque maladie au sein des quadrats. Les 16 triangles rouges symbolisent les plantes échantillonnées (trois feuille par plante) et pour lesquelles sont aussi notés les symptômes observés. Les ronds jaunes correspondent à des pieux (visible sur la photo d) implantés afin de délimiter la grille sur le terrain.



Les résultats de l'observation des symptômes (179 observations au total 2016-19) montrent que de manière générale (et pour la bactériose à stries foliaires et la pyriculariose en particulier), les prévalences de plantes symptomatiques sont plus élevées dans les périmètres irrigués que dans les bas-fonds (effet du type de riziculture sur la fréquence des symptômes, toutes maladies comprises : $df=1$, $Chi = 5.28$, $p = 0.022$).

En outre, le type de riziculture a aussi un effet clair sur deux maladies : la bactériose à stries foliaires (BLS) et la pyriculariose (*Figure 6*). Notre étude ne permet pas de distinguer quelle pratique culturale particulière est responsable de cet effet, les différences entre irrigué et bas-fonds étant multiples (voir ci-dessus) et notre échantillonnage n'est pas adapté pour les séparer. Deux hypothèses peuvent cependant être émises : **1)** une relative humidité plus forte en irrigué, qui favoriserait la dissémination des inoculum bactériens et fongiques [67], et **2)** un effet de la fertilisation minérale, connue pour affecter la pyriculariose [68] et la bactériose vasculaire du riz [69]. Nous avons initié des essais au champ contrôlant les niveaux de fertilisation, et les résultats préliminaires suggèrent un effet de la fertilisation sur la bactériose à stries foliaires, confortant l'hypothèse 2.

Les fréquences de champs infectés et incidences de la panachure jaune du riz ne sont pas affectés par le type de riziculture. En revanche l'interaction entre type de riziculture et zone géographique a un effet significatif. Ainsi, les sites spécifiques sont affectés de façon variable par cette maladie, que nous avons ensuite étudié plus en détail avec du diagnostic sérologique (voir ci-dessous p30).

L'helminthosporiose est la maladie la plus fréquemment rencontrée, avec 32.2% des plantes présentant des symptômes (contre 6.5% pour la panachure jaune, 6.7% pour la bactériose à stries foliaires, 9.9% pour la pyriculariose. Données issues de l'observation de 2 864 plantes) et 80% des parcelles présentant des plantes symptomatiques. Ces résultats montrent l'intérêt d'intensifier les recherches sur l'helminthosporiose, qui bien qu'ayant joué un rôle dans des famines historiques (1918-19 et 1942 en Inde), reste une maladie du riz peu étudiée, même à l'échelle mondiale [60]. La thèse d'Hilaire Kaboré, pour laquelle je participe au comité de thèse, est en cours de finalisation à ce sujet au Burkina Faso.

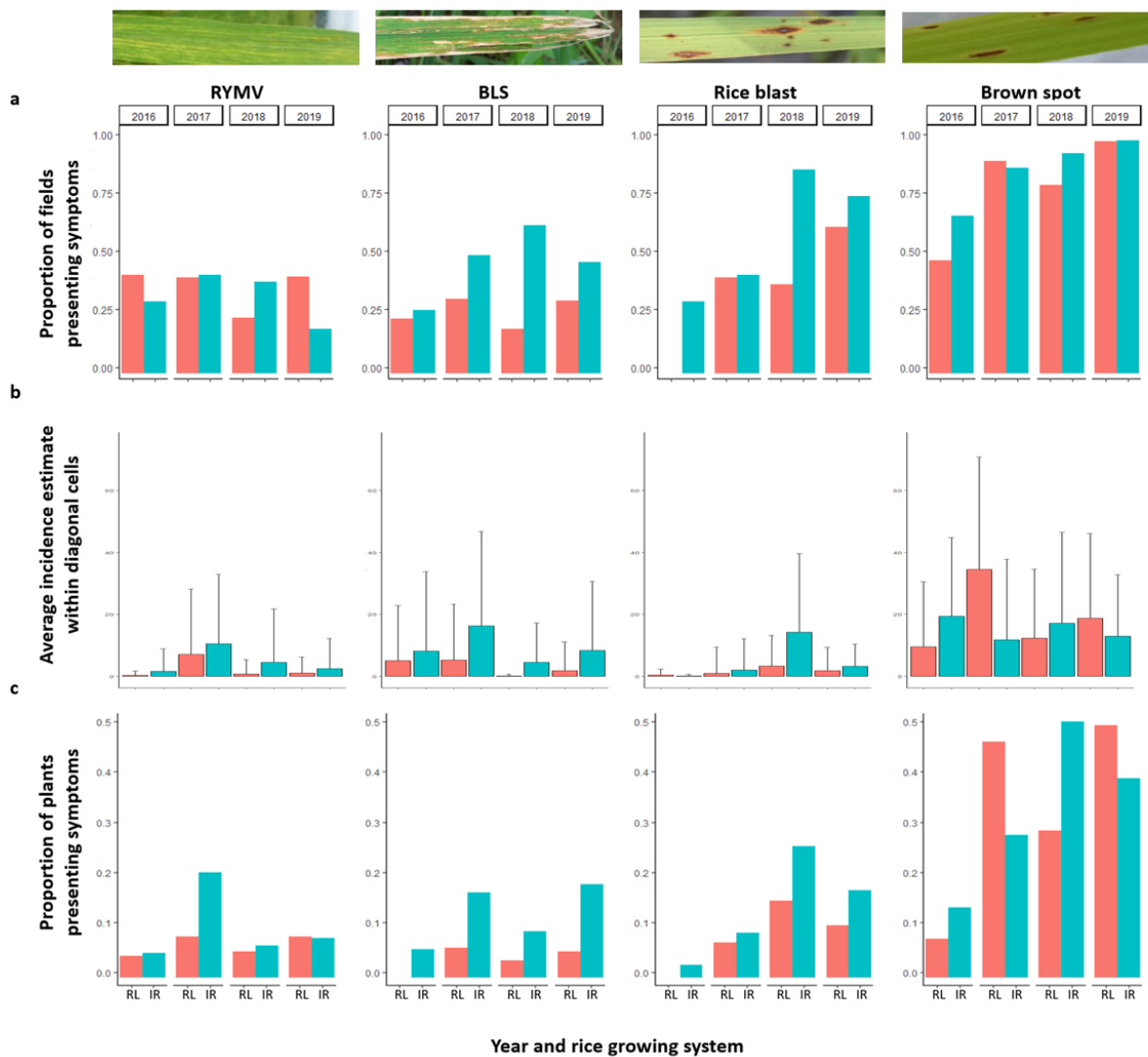
Les maladies étudiées ont été fréquemment retrouvées dans les mêmes parcelles, avec des niveaux de co-occurrence variant entre 10% (panachure jaune et pyriculariose) et 41% (pyriculariose et helminthosporiose). Ces niveaux de co-occurrence étaient plus élevés dans les périmètres irrigués que dans les bas-fonds.

Nous avons aussi mentionné les niveaux de co-infection, basées sur l'observation des symptômes, avec 5% (152/2864) plantes présentant des symptômes spécifiques d'au moins deux maladies différentes. Cette fréquence de co-infection était maximale dans le périmètre irrigué de Banzon en 2019, avec 20% (19/96) plantes ayant deux types de symptômes parmi les quatre maladies étudiées.

Figure 6 : Effet du type de riziculture (périmètres irrigués représentés en bleu et bas-fonds en rouge) sur les symptômes spécifiques des quatre maladies majeures étudiées : la panachure jaune du riz, la bactériose à stries foliaires, la pyriculariose et l'helminthosporiose, sur les quatre années (2016-2019).

- Proportion de champs présentant des symptômes spécifiques de chacune des quatre maladies pour chaque type de riziculture et année.
- Incidence moyenne estimée à partir des observations réalisées dans les quatre quadrats de la diagonale (représentée en bleu, Figure 5e) pour chacune des quatre maladies et par type de riziculture et année.
- Proportion de plantes échantillonnées (parmi les 16 plantes/parcelle représentées par les triangles rouges, Figure 5e) présentant des symptômes spécifiques de chacune des quatre maladies et par type de riziculture et année.

RYMV : panachure jaune du riz ; BLS : bactériose à stries foliaires ; Rice blast : pyriculariose ; brown spot : helminthosporiose.



Cependant, les symptômes spécifiques pouvant être affectés par la présence simultanée des deux agents pathogènes, il n'est pas idéal d'estimer les niveaux de co-infection en se basant sur les symptômes seulement. C'est pourquoi notre étude sur RYMV-Xo en 2015 était basée sur le diagnostic sérologique pour RYMV et la PCR multiplex pour Xo (voir p24).

En outre, et notamment à cause du fait que les symptômes de la bactériose vasculaire pourraient être causés par plusieurs bactéries [70-73], nous avons collaboré avec AfricaRice et l'INERA pour développer un outil de diagnostic PCR ciblant simultanément plusieurs bactéries susceptibles d'être pathogènes chez le riz : (1) *Pseudomonas fuscovaginae*, (2) *Xanthomonas oryzae*, (3) *Burkholderia glumae* and *Burkholderia gladioli*, (4) *Sphingomonas spp* et (5) *Pantoea spp*. L'application de cette PCR multiplex à 256 échantillons collectés en 2016 à Banzon et Karfiguela (8 champs par site) a montré que 9% (23/256) de l'ensemble des échantillons présentaient un diagnostic positif pour au moins deux bactéries et la proportion intra-parcelle atteignait 37.5%. Pour Xo, les résultats obtenus étaient globalement congruents avec les symptômes observés visuellement mais permettaient de mettre en évidence des plantes co-infectées avec d'autres bactéries.

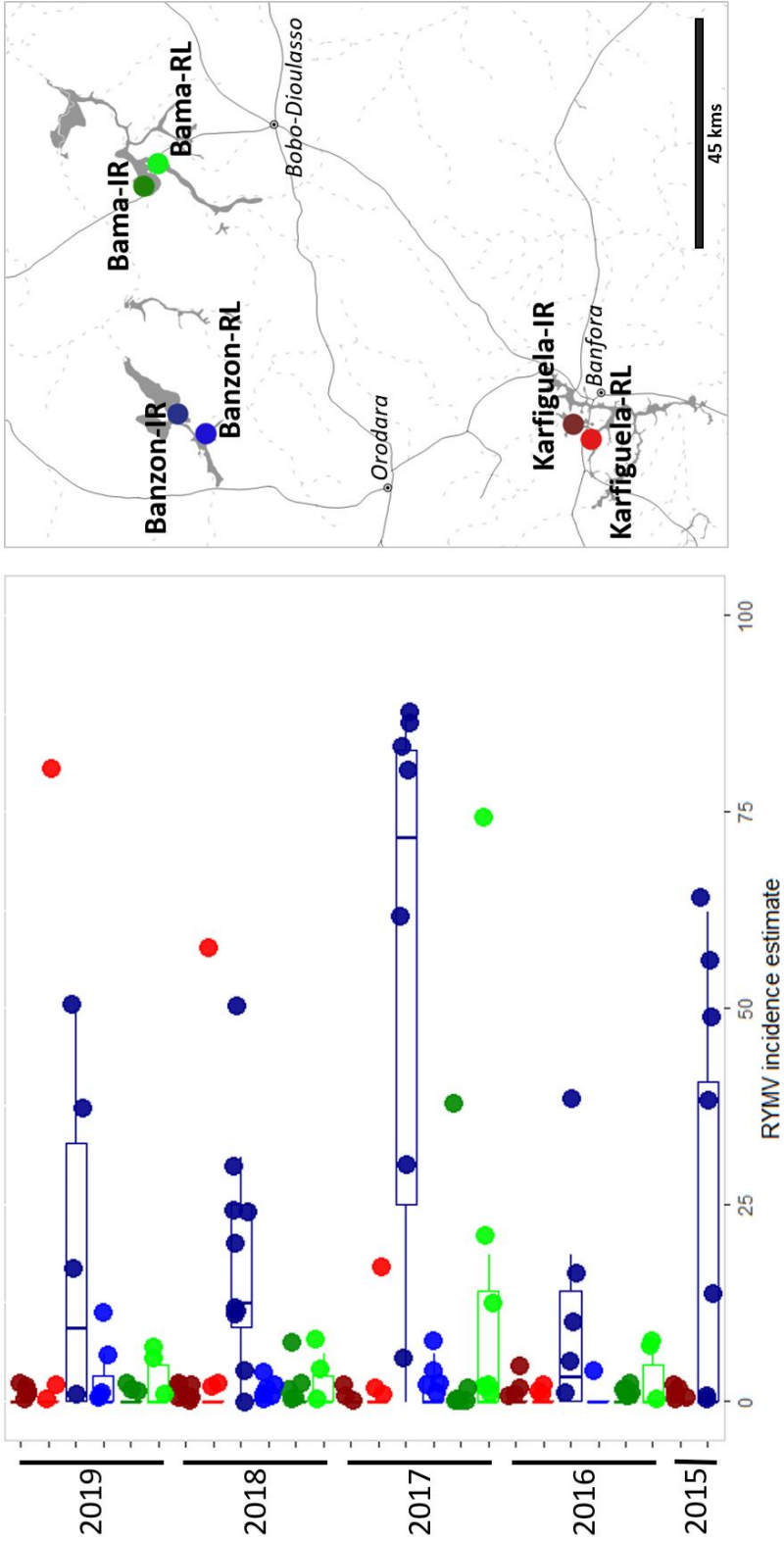
Par ailleurs, au cours d'une étude pas encore publiée, nous avons réalisé des tests de diagnostic ELISA anti-RYMV de façon systématique (sur les 16 plantes échantillonnées, voir [Figure 5e](#)) dans toutes les parcelles présentant des symptômes de panachure jaune du riz. Ainsi, en faisant l'hypothèse raisonnable que les champs où des symptômes de panachure ont été observés sont les seuls où le virus RYMV est présent, ces données constituent une vision spatio-temporelle de la prévalence du RYMV dans 6 sites et sur 4 années (2016 à 2019). Les résultats confirment et précisent les résultats obtenus sur la base des symptômes, avec une absence d'effet du système de riziculture, mais certains sites particulièrement affectés par la maladie (en particulier le périmètre irrigué de Banzon _ et dans une bien moindre mesure le bas-fond de Badala), où les niveaux d'incidence sont significativement plus élevés que les autres sites ([Figure 7](#)).

En outre, ces données de prévalence du RYMV montrent une agrégation des plantes positives au sein des parcelles touchées. En effet, au sein des parcelles étudiées (25*25 mètres environ, [Figure 5e](#)), la distribution s'écarte du patron attendu sous l'hypothèse nulle d'indépendance des résultats ELISA pour deux plantes distantes de 5 mètres, que ce soit pour les plantes symptomatiques (*effect size* ~ 1.15; $p < 0.001$) ou pour les plantes positives en ELISA-RYMV (*effect size* ~ 1.15 ; $p < 0.001$) ; tandis que ce patron disparaît pour une distance de 10 mètres. Ainsi, tel qu'attendu pour un virus transmis mécaniquement comme le RYMV, les plantes infectées se trouvent préférentiellement côte à côte, plutôt qu'à distance au sein des champs de riz.

Le travail de terrain, pluri-site et pluriannuel, réalisé entre 2015 et 2019 (voir aussi le Tableau p46), a ainsi permis de collecter un grand nombre d'échantillons de feuilles et de racines de riz, stockés au programme 'Riz et riziculture' de l'INERA et collectés dans le respect du protocole de Nagoya. Les informations correspondantes sont disponibles dans l'entrepôt de

données IRD DataSuds (<https://doi.org/10.23708/8FDWIE>) et alimentent les autres thématiques de recherche présentées ci après.

Figure 7 : Dynamique spatiotemporelle du virus de la panachure jaune du riz (RYMV) dans les six sites étudiés dans l’Ouest du Burkina Faso. Estimation des prévalences dans chaque champ sur la base de diagnostic sérologique (ELISA) sur 16 plantes par parcelle.



Sur l'archipel d'Åland, la présence/absence du champignon *P. plantaginis* est évaluée dans 4000 sous-populations de plantain lancéolé lors d'une campagne annuelle d'observations (septembre) par une quarantaine d'étudiants depuis 2001 [1, 74].

La compilation et analyse statistique de ces données a permis de montrer des résultats attendus tels qu'un effet positif de la connectivité des populations de pathogènes et de la taille des sous-populations de plantain sur l'occurrence du champignon dans une sous-population donnée. En outre et contrairement à l'attendu de la théorie des métapopulations, des colonisations plus fréquentes et extinctions plus rares avaient lieu dans les populations de plantes bien connectées entre elles. Ce résultat a conduit à l'hypothèse d'une plus grande résistance des plantes issues des populations bien connectées, par rapport à celles issues de populations isolées, ce qui a été vérifié expérimentalement. Globalement, ces résultats montrent l'importance de l'évolution des populations de plante hôte sur la dynamique des maladies.

En outre, l'analyse des échantillons collectés avec un test de diagnostic spécifique de l'hyperparasite *Ampelomyces* a permis de montrer que la prévalence de cet hyperparasite était négativement corrélée avec la survie hivernale du champignon *P. plantaginis*. Ces résultats montrent ainsi l'effet régulateur que peut avoir un hyperparasite sur la dynamique des populations d'agent responsable de l'oïdium du plantain.

Publications associées

Barro, M.; Kassankogno, A.I.; Wonni, I.; Sereme, D.; Somda, I.; Kaboré, K.H.; Bena, G.; Brugidou, C.; Tharreau, D.; Tollenaere, C. Spatiotemporal Survey of Multiple Rice Diseases in Irrigated Areas Compared to Rainfed Lowlands in the Western Burkina Faso. *Plant Disease* **2021**, doi:10.1094/PDIS-03-21-0579-RE.

Bangratz, M.; Wonni, I.; Kini, K.; Sondo, M.; Brugidou, C.; Béna, G.; Gnacko, F.; Barro, M.; Koebnik, R.; Silué, D.; Tollenaere C. Design of a new multiplex PCR assay for rice pathogenic bacteria detection and its application to infer disease incidence and detect co-infection in rice fields in Burkina Faso. *PLOS ONE* **2020**, *15*, e0232115, doi:10.1371/journal.pone.0232115.

Tollenaere, C.; Pernechele, B.; Makinen, H.S.; Parratt, S.R.; Nemeth, M.Z.; Kovacs, G.M.; Kiss, L.; Tack, A.J.M.; Laine, A.L. A hyperparasite affects the population dynamics of a wild plant pathogen. *Molecular Ecology* **2014**, *23*, 5877-5887, doi:10.1111/mec.12908.

Jousimo, J.; Tack, A.J.M.; Ovaskainen, O.; Mononen, T.; Susi, H.; Tollenaere, C.; Laine, A.-L. Disease ecology: Ecological and evolutionary effects of fragmentation on infectious disease dynamics. *Science* **2014**, *344*, 1289-1293, doi:10.1126/science.1253621.

3. Caractérisation génétique des plantes hôtes

En collaboration avec l'INERA et l'UMR DIADE (notamment Philippe Cubry, IRD), nous avons caractérisé la diversité génétique (analyse de 7 000SNP) des riz collectés dans les rizières de l'Ouest du Burkina Faso en 2018, c'est à dire 50 échantillons (une plante par parcelle) répartis dans les six sites (**Figure 5**). Nous avons aussi inclus 27 variétés du programme Riz et riziculture de l'INERA et comparé ces 77 échantillons du Burkina Faso à la diversité mondiale du riz.

Tous les échantillons analysés sont confirmés comme correspondant à l'espèce *Oryza sativa* (aucun *O. glaberrima*). En outre, les riz cultivés dans les parcelles paysannes échantillonnées sont principalement des *Oryza sativa indica* (**Figure 8**) et il existe une diversité génétique significative (global diversité génique : 0.137).

Seul un des échantillons (parcelle TG02) n'appartient pas au groupe *indica* mais *Oryza sativa Aus* (**Figure 7**). Cette parcelle est située dans le bas-fonds de Tengrela, dont les autres échantillons se distinguent aussi des autres échantillons de parcelles paysannes (suspicion d'introgression entre *Aus* et *indica*). Ces résultats correspondent aux attendus issus des enquêtes puisqu'aucun nom de variété cité par les producteurs de Tengrela ne correspondait à une variété homologuée, contrairement aux cinq autres sites. Le bas-fonds de Tengrela est aussi caractérisé par les pratiques culturelles les moins intensives (voir p26).

On n'observe pas de structuration claire entre les échantillons collectés dans les périmètres irrigués et ceux venant des bas-fonds (**Figure 8b**).

Les variétés homologuées sont, elles, réparties entre les groupes *indica* et *japonica* (**Figure 8**), ces dernières correspondant aux riz adaptés à la riziculture pluviale, dans laquelle nous n'avons pas échantillonné en parcelles paysannes.

Enfin, nous montrons une congruence assez faible entre les noms de variété cités par les producteurs et les données génomiques, ce qui montre l'importance de telles approches (génétique du riz) pour caractériser les plantes hôtes dans nos contextes de travail de phytopathologiste, ou microbiologiste.

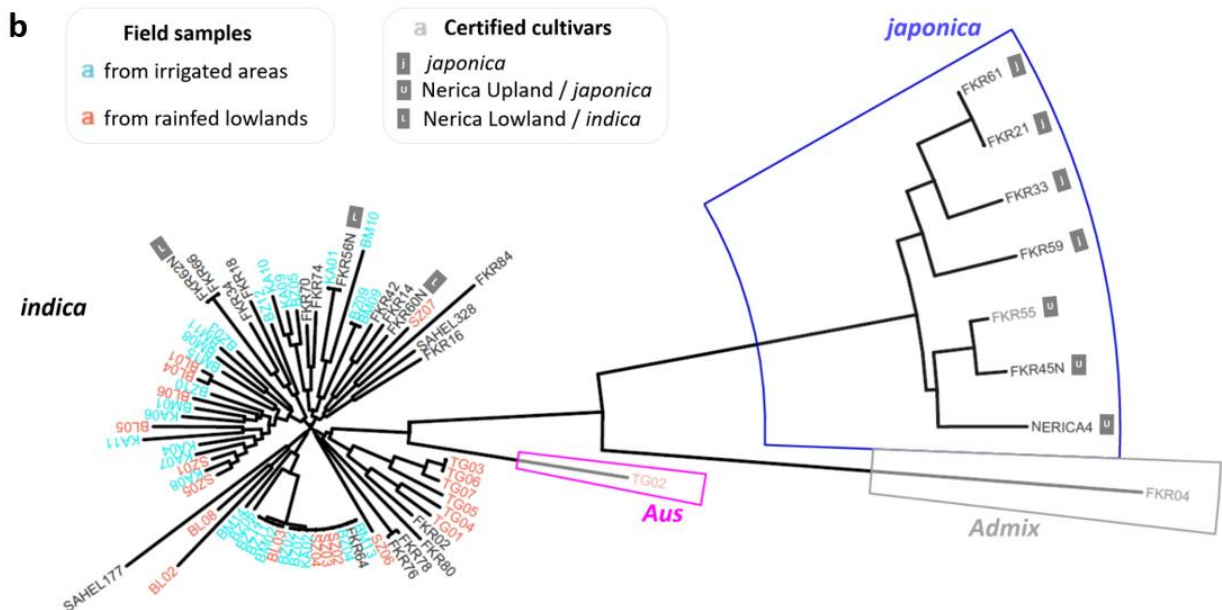
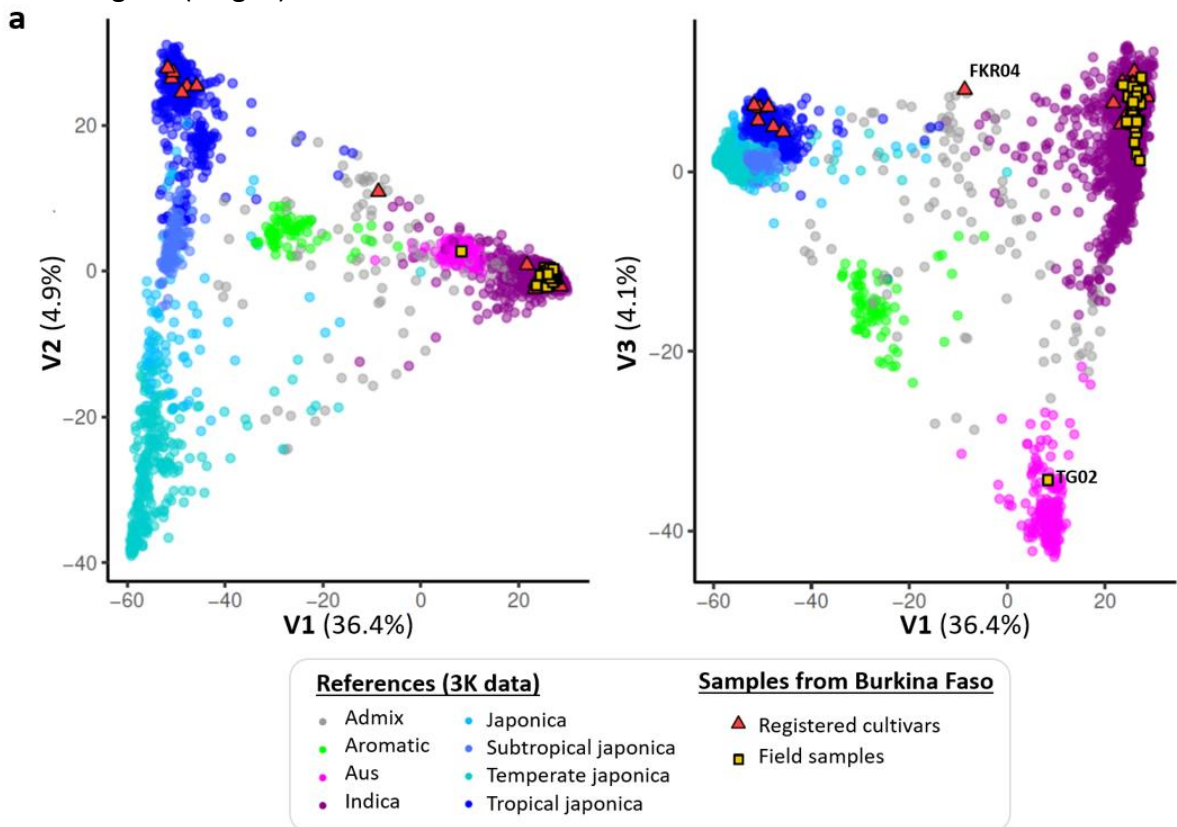
Les perspectives à ce travail, outre une étude plus vaste (en termes de zone géographique ou de précision, notamment inclure la diversité intra-champ), incluent le développement de marqueurs génétiques des variétés de riz, qui seraient simples à utiliser à l'INERA afin d'améliorer la traçabilité des variétés locales.

Publication associée

Barro, M.; Konate, K.A.; Wonni, I.; Kassankogno, A.I.; Sabot, F.; Albar, L.; Somda, I.; Béna, G.; Ghesquière, A.; Kam, H.; Sié, M.; Cubry, P.*; Tollenaere, C.* Assessment of Genetic Diversity of Rice in Registered Cultivars and Farmers' Fields in Burkina Faso. *Crops* **2021**, *1*, doi:10.3390/crops1030013.

Figure 8 : Structuration génétique des riz au Burkina Faso (77 échantillons dont 50 issus de parcelles paysannes et 27 variétés homologuées).

- Résultats de l'analyse en composantes principales incluant les 77 échantillons de riz du Burkina Faso au sein de la diversité mondiale du riz (3 000 génomes de référence).
- Arbre phylogénétique non raciné (méthode de Neighbor-Joining) obtenu sur les 77 échantillons du Burkina Faso. Les codes de chaque échantillon indiquent **1**) le site d'étude avec en bleu les sites irrigués (BZ: Banzon, KA: Karfiguela, BM: Bama) et en orange les sites de bas-fonds (SZ: Senzon, TG: Tengrela, BL: Badala) ou bien **2**) le nom de la variété homologuée (en gris).



4. Structuration des communautés microbiennes associées aux plantes

Dans le contexte d'une démarche 'phytobiome' sur le riz au Burkina Faso, la diversité des micro-organismes (Procaryotes et Eucaryotes) hébergés dans les racines de riz a été caractérisée. En effet, ces micro-organismes associés aux racines jouent un rôle important dans la croissance des plantes et le rendement et influence aussi le contrôle des maladies [23, 24]. Ils participent à déterminer l'issue des interactions entre la plante et l'agent pathogène (voir [Figure 1](#) et p17). Nous avons ainsi initié la caractérisation des microbiomes associés aux racines du riz dans nos sites d'étude au Burkina Faso.

En considérant la riziculture de bas-fonds comme des systèmes moins intensifs que la riziculture irriguée (voir p26), nous attendions une diversité plus forte dans ces systèmes et des réseaux plus complexes [75, 76]. De tels microbiomes racinaires riches et complexes pourraient participer à expliquer la prévalence réduite des maladies dans les bas-fonds par rapport aux périmètres irrigués (voir p28).

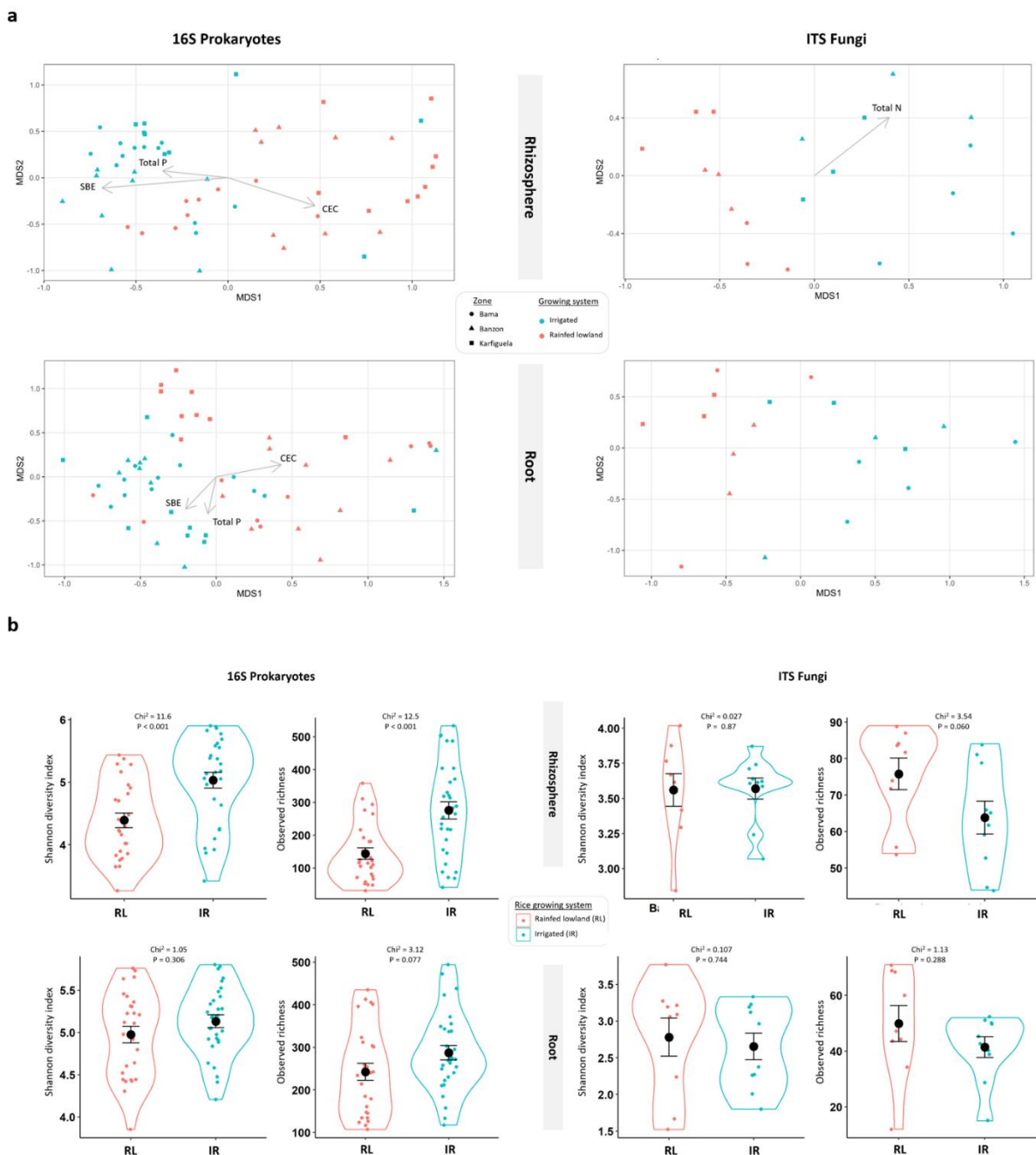
Cette étude a été réalisée en collaboration avec l'INERA et l'équipe BRIO, IRD, UMR PHIM (Lionel Moulin, Gilles Bena, Agnieszka Klonowska, et les post-doctorantes Marie Simonin, puis Caroline Brunel). Ce travail a été mené sur un échantillonnage de racines de riz réalisé sur des parcelles aussi étudiées en termes de symptômes ([Figure 6](#)), entre octobre et novembre 2018, ce qui correspond au stade de maturation, une étape où le microbiome racinaire est stabilisé [77]. Les ADN issus de la rhizosphère et de racines entières de 57 plants de riz ont été analysés en metabarcoding 16S (procaryotes), avec un échantillon par plant de riz, et aussi pour le marqueur ITS (eucaryotes), mais avec seulement un échantillon par parcelle (les ADN des trois plantes collectées ont été mélangés pour chaque parcelle).

Les résultats montrent une structuration attendue en fonction des compartiments racinaires et des zones géographiques [78, 79], mais aussi une structuration très claire des communautés microbiennes en fonction du type de riziculture (irriguée ou bas-fonds, [Figure 9](#)). Bien que les paramètres physico-chimiques du sol ne soient pas affectés de manière significative par le type de riziculture, ce dernier a un impact sur la structuration des communautés microbiennes associées aux racines. Nos résultats sont en accord avec l'effet du système de riziculture (riz pluvial vs de bas-fonds) mis en évidence dans un essai en Italie [80], mais restent originaux car obtenus dans un contexte de parcelle paysanne, où un grand nombre de facteurs (irrigation, fertilisation, variétés de riz, rotation) varient simultanément (voir p26), ce qui aurait pu amoindrir l'impact du type de riziculture.

Les séquences 'core', qui sont présentes de manière presque systématique dans tous les échantillons, ont été identifiées pour chacun des systèmes de riziculture. De manière intéressante, nous remarquons que très peu sont communes aux deux systèmes (seulement *Bradyrhizobium tropiciagri* pour les Procaryotes).

Figure 9 : Comparaison des microbiomes racinaires du riz entre riziculture irriguée et riziculture de bas-fonds. Dans les deux cas, les résultats obtenus pour le marqueur 16S (Prokaryotes, 57 échantillons) est présenté à gauche et le marqueur ITS (champignons, 19 échantillons) est à droite.

- Structuration de la diversité microbienne de la rhizosphère (en haut) et des racines (en bas). Les paramètres chimiques du sol ayant un effet significatif sur le microbiome sont représentés par des flèches. Total P : phosphore total ; SBE : somme des bases échangeables ; CEC : capacité d'échanges cationiques, Total N : azote total.
- Comparaison de la richesse spécifique (Observed richness à droite) et de l'indice de diversité de Shannon (à gauche) dans la rhizosphère (en haut) et les racines (en bas) du riz.



Nous avons aussi identifié une liste de séquences correspondant à des taxons indicateurs, dont la distribution est associée à un environnement particulier, ici le type de riziculture. Globalement, nous remarquons que les taxons 'core' et 'indicateurs' identifiés correspondent principalement aux familles *Bacillaceae* et *Burkholderiaceae* pour les bas-fonds et aux familles *Burkholderiaceae* et *Moraxellaceae* dans les périmètres irrigués.

En termes de diversité au sein de chaque échantillon, nous mettons en évidence une plus forte diversité en irrigué par rapport aux bas-fonds, pour les procaryotes de la rhizosphère (**Figure 9**). Aussi (et probablement en conséquence), les réseaux de co-occurrence réalisés pour les procaryotes dans chacun des systèmes de culture sont plus complexes en riziculture irriguée par rapport aux bas-fonds. Ces résultats sont donc contraires aux attendus présentés ci-dessus (voir p35). Sachant que la structuration génétique du riz est peu affectée par le système de riziculture (mais plutôt par un site en particulier, celui de Tengrela, voir p33), la fertilisation semble être le facteur le plus susceptible d'avoir un effet, avec une fréquence de fertilisation minérale plus élevée dans les périmètres irrigués que dans les bas-fonds (voir p26). La relation entre diversité microbienne et fertilisation minérale chez le riz a été étudiée dans plusieurs études, mais avec des résultats parfois contradictoires (par exemple, un effet positif de la fertilisation sur la diversité [81], tandis que l'opposé était mis en évidence dans une autre étude [82]). Ces aspects méritent des études complémentaires, et une méta-analyse prenant en compte le type de sol et détaillant les types de fertilisation et paramètres du microbiome serait très intéressante pour mieux comprendre la relation entre régime de fertilisation et diversité microbienne associée aux racines.

En outre, un autre facteur est susceptible de conduire à une diversité plus forte dans les bas-fonds que dans les périmètres irrigués, c'est la connectivité, non caractérisée formellement dans notre étude, mais très probablement plus importante en irrigué avec des surfaces plus importantes et possibilité de double culture annuelle de riz. Une connectivité plus importante conduit généralement à une augmentation de la biodiversité [83]. De tels principes de méta-communautés (incluant la théorie de la niche et celle des métapopulations) restent peu explorés dans le cas des microbiomes, mais pourraient être pertinents dans ce contexte [84].

Nous avons aussi montré que les sites de bas-fonds ont des microbiomes plus différenciés entre eux que les sites irrigués, ce qui correspond probablement à des différences plus fortes en termes de pratiques culturales et de géotypes de riz, mais aussi au fait que les périmètres irrigués, de par la maîtrise totale de l'eau, sont des systèmes plus 'maîtrisés', moins sujets aux variations climatiques (la pluviométrie étant différente entre les trois zones géographiques étudiées).

Enfin, nous avons recherché dans les jeux de données metabarcoding des séquences particulièrement intéressantes, parce que correspondant probablement soit à des organismes phyto-bénéfiques, soit à des agents pathogènes. En termes de micro-organismes bénéfiques, les séquences correspondant aux *Glomeromycetes*, des champignons mycorhiziens à

arbuscules, sont plus abondantes dans les bas-fond qu'en riziculture irriguée. Ce résultat était attendu compte tenu que la capacité de mise en place de mycorhization chez le riz est connue pour être affectée par le régime de fertilisation [85].

En terme de micro-organismes pathogènes, nous n'avons pas trouvé dans les données de metabarcoding de séquences correspondant aux agents pathogènes bactériens ou fongiques dont les symptômes ont été observés et la distribution des maladies caractérisés (*Xanthomonas oryzae*, *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris oryzae*, voir p28). En revanche, les bactéries pathogènes du riz suivantes sont présentes, mais rares dans le jeu de données : *Burkholderia glumae*, causant la maladie des panicules du riz [86], identifiée à Tengrela, *Acidovorax avenae*, agent des rayures bactériennes du riz, suspectée dans quatre sites (Banzon, Senzon, Karfiguela et Tengrela) et *Dickeya chrysanthemi*, causant la pourriture des pieds, à Bama. Dix genres correspondant à des agents pathogènes fongiques, dont le plus abondant est *Curvularia* [87, 88], ont aussi été trouvés dans notre jeu de données. Bien que cette recherche d'agents pathogènes dans les microbiomes racinaires doit nuancée en termes d'absence de certains agents pathogènes attendus (effet du stade phénologique et de l'organe prélevé), nous notons que deux bactéries qui n'avaient pas été trouvées par PCR multiplex (voir p30) sur les feuilles dans deux sites (Karfiguela et Banzon) ont été mises en évidence ici.

Cette étude ne permet pas d'aller plus loin dans l'étude du lien entre microbiome racinaire et maladies du riz, mais elle décrit les grands patrons de structuration des communautés microbiennes associées aux racines, et peut donc servir de base pour les perspectives de travail sur le phytobiome dans les rizières du Burkina Faso.

Ainsi, des travaux en cours, coordonnés par Agnieszka Klonowska, ont montré l'effet de la variété de riz cultivée (sur un essai réalisé dans le périmètre irrigué de Bama, incluant un panel de diversité mondiale du riz, le [Global Rice Array](#)) et celui des pratiques culturales (gradient entre pratiques agro-écologiques et pratiques plus intensives sur les zones de Bama et Badala) sur le microbiome racinaire du riz au Burkina Faso.

Enfin, une partie du microbiome racinaire bactérien du riz de l'ouest du Burkina Faso a été cultivé, isolé et mis en collection (~3000 souches bactériennes, thèse de Moussa Sondo en cours). Une sélection de bactéries potentiellement phytobénéfiques a été réalisée sur la bases de tests biochimiques et des données de la littérature, et des expérimentations ont permis de révéler des effets intéressants/prometteurs sur la croissance du riz, le rendement et le bio contrôle des bactérioses à *Xanthomonas* et de la pyriculariose, lors de l'inoculation précoce de ces bactéries racinaires.

Publication en cours de relecture

Barro, M., Wonni, I., Kassankogno, A. I., Klonowska, A., Somda, I., Simonin, M., Moulin, L., Béna, G., Brunel, C. *, Tollenaere, C. * (soumis à *FEMS Microbiology Ecology*). The impact of the rice production system (irrigated vs lowland) on root-associated microbiome from farmer's fields in western Burkina Faso. Article en ligne: doi.org/10.1101/2022.03.29.486073

*equal contribution

5. Evolution de la diversité génétique et pathogénique des agents pathogènes de plantes

La diversité génétique et pathogénique des agents pathogènes est souvent importante, et documenter sa dynamique et ses conséquences sur les maladies est un enjeu majeur en biologie évolutive des interactions hôtes-pathogènes, avec des conséquences en santé publique, comme l'illustre récemment la succession rapide de vague épidémiques liées à différents variants du SRAS-Cov2.

Sachant que le site irrigué de Banzon a été identifié comme hotspot de la panachure jaune du riz (voir p31), nous avons entrepris de caractériser la diversité génétique du virus RYMV dans ce site en particulier. Des échantillons issus de cinq parcelles de Banzon, suivies sur cinq années (2015 à 2019), ont été sélectionnés et leurs séquences codant pour la protéine de capsid (CP 'Coat Protein') révèle une diversité génétique très élevée ($\pi = 0.0383 \pm 0.0043$ subst/nt). Quatre groupes génétiques ('souches') sont présents (**Figure 10a**): 'S2', 'S1 Afrique centrale', 'S1 Afrique de l'ouest', et un groupe issu d'une recombinaison entre les souches 'S1 Afrique centrale' et 'S1 Afrique de l'ouest' (**Figure 10b**). La présence de ces souches à l'échelle de la région est en accord avec les connaissances préalables sur la diversité du RYMV en Afrique de l'Ouest [89]. Mais ces résultats sont originaux car ils traduisent d'une remarquable diversité génétique à une échelle géographique de l'ordre de quelques kilomètres carrés seulement, voire même des parcelles de 25mètres de côté (**Figure 5**).

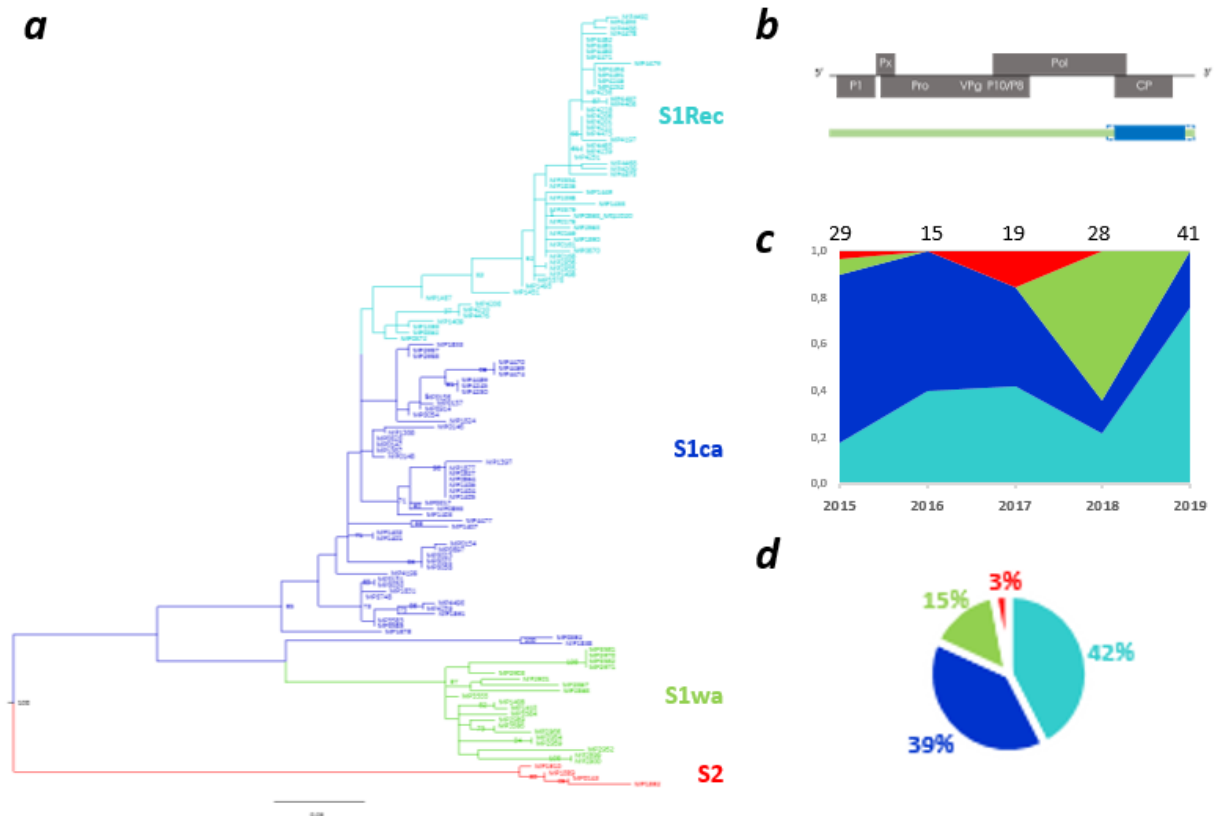
La dynamique temporelle sur les cinq ans suggère des changements dans la composition génétique de la population virale dans le périmètre (**Figure 10c**), avec une diminution de la fréquence du groupe 'S1 Afrique centrale' (prédominant entre 2015 et 2017, mais rare en 2018 et 2019) et une augmentation de la fréquence du groupe génétique recombinant (particulièrement en 2019). Ces résultats sont basés sur un échantillonnage de taille moyenne, entre 15 et 41 (moyenne de 26.4) échantillons par an, et donc potentiellement sujets à un biais au niveau des fréquences génétiques. Ces fréquences peuvent aussi être regardées sur l'ensemble de la période (2015-2019) montrant la rareté du groupe 'S2' et trois autres groupes génétiques en fréquence relativement comparables (**Figure 10d**). Au sein d'une même parcelle dans une année d'étude donnée, on trouve parfois jusqu'à trois groupes génétiques distincts.

Deux hypothèses peuvent être émises quant à l'évolution des fréquences relatives de ces groupes : 1) évolution neutre, avec une dynamique gouvernée par la démographie et le hasard (prépondérance des mécanismes de dérive génétique, migration et mutation) ou 2) impact de la sélection naturelle.

Ainsi, pour évaluer la seconde hypothèse, nous avons initié l'étude expérimentale d'isolats de RYMV issus de ces quatre groupes génétiques. Dans une première expérience, un isolat viral de chacun des quatre groupes a été évalué sur des variétés de riz différentes dont les trois variétés les plus fréquemment cultivées au Burkina Faso (FKR64=TS2, FKR62N et FKR19, voir p33).

Figure 10 : Diversité génétique du virus de la panachure jaune du riz dans un hotspot de la maladie au Burkina Faso.

- Arbre phylogénétique (méthode de Maximum de vraisemblance) réalisé sur 132 séquences de la Coat Protein (CP) du RYMV.
- Structure du génome du RYMV, montrant la partie recombinée pour le groupe génétique 'S1Rec'
- Evolution des fréquences des quatre groupes génétiques sur les cinq années de l'étude
- Fréquences des quatre groupes génétiques sur l'ensemble de la période 2015-2019.



La variété de riz, l'isolat viral, ainsi que leur interaction, ont tous trois un effet sur les symptômes de panachure jaune (AUDPC estimé à partir de cinq dates d'observations entre 9 et 24 jours post-infection), ainsi que sur la quantité de virus (estimé par PCR quantitative [90], dans le méristème, 7 jours post-infection). Par rapport à la variété témoin très sensible IR64 et à la variété tolérante Azucena, les trois variétés burkinabè ont des comportements similaires et intermédiaires. L'isolat recombinant (BF56) induit des symptômes plus faibles et se multiplie moins, par rapport aux deux autres isolats de Banzon (groupe génétique S1wa et S1ca) et à l'isolat de référence, BF1 (groupe S2), connu pour être très virulent.

Une seconde expérience est en cours, avec une seule variété, mais quatre isolats pour chacun des trois groupes génétiques majoritaires, afin d'évaluer la variabilité pathogénique au sein de chaque groupe génétique, et de vérifier si les différences entre groupes génétiques se confirment sur un échantillonnage d'isolat plus large.

En supposant que la charge virale peut être considérée comme un estimateur de la valeur sélective des isolats étudiés, nous pourrions utiliser ces données pour faire des hypothèses

quant à leur évolution dans le site de Banzon où ils co-existent. L'ensemble de ces résultats apportent des informations indispensables pour la mise en œuvre de stratégie de lutte efficace contre ce virus dévastateur pour la production rizicole en Afrique.

Le même type d'approche décrivant la diversité génétique d'un agent pathogène majeur du riz a été initié pour *Xanthomonas oryzae* pv *oryzicola* (*Xoc*), responsable des stries bactériennes (BLS), en collaboration avec Mathilde Hutin (IRD, UMR PHIM). Le génotypage par Analyse VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) Multi Locus (MLVA) a été mis au point pour les souches de bactéries *Xanthomonas oryzae* [91]. Nous avons utilisé cette méthode de génotypage, directement sur broyat de feuilles symptomatiques BLS, pour environ 150 échantillons collectés entre 2015 et 2019 dans les six sites d'études (**Figure 5**). Les résultats, actuellement en cours d'analyse, indiqueraient une forte diversité génétique de *Xoc* dans la zone étudiée, ce qui est en accord avec des résultats préalablement obtenus à partir des souches de *Xoc* (Sicard, Hutin, et al, in prep). Ils suggèrent en outre la présence de feuilles co-infectées par plusieurs souches de *Xoc*.

Sur l'archipel d'Åland, à l'échelle de l'ensemble de la métapopulation, ou bien au sein de chacune des sous-populations locales, une diversité génétique et pathogénique importante est observée chez le champignon *P. plantaginis*, responsable de l'oïdium du plantain.

Nous avons tout d'abord étudié en particulier un trait de l'agent pathogène : sa capacité à produire des structures sexuées permettant la survie hivernale du champignon : les chasmothèces. Contrairement à l'attendu ces structures peuvent être produites même par des cultures issues de spores uniques. La variabilité dans la production de ces structures dépend à la fois du génotype du pathogène et de l'environnement (ici la température), mais aussi de l'interaction entre ces deux facteurs. Son déterminisme est donc complexe, ce qu'il faudra mieux comprendre du fait de l'importance de ses structures pour le passage de l'hiver et donc la capacité de maintien d'une sous-population d'une année sur l'autre.

En outre, à l'échelle locale (une seule sous-population de plantain), un suivi de la dynamique de la maladie a été couplé au génotypage détaillé des lésions en fin de phase épidémique. L'analyse statistique de l'ensemble de ces données a permis de montrer que les différentes souches (= génotypes) de pathogènes ne contribuent pas de manière équivalentes à l'épidémie localement (variabilité dans la performance des génotypes). La diversité génétique de l'agent pathogène joue ainsi un rôle majeur dans la dynamique de la maladie.

Publications associées

Tollenaere, C.; Laine, A.L. Investigating the production of sexual resting structures in a plant pathogen reveals unexpected self-fertility and genotype-by-environment effects. *Journal of Evolutionary Biology* **2013**, *26*, 1716-1726, doi:10.1111/jeb.12169.

Soubeyrand, S.; Tollenaere, C.; Haon-Lasportes, E.; Laine, A.-L. Regression-Based Ranking of Pathogen Strains with Respect to Their Contribution to Natural Epidemics. *Plos One* **2014**, *9*, doi:10.1371/journal.pone.0086591.

6. Découverte de nouveaux virus de plantes grâce à une approche sans a priori 'virome'

Les nouvelles approches de séquençage, avec une détection moléculaire sans a priori de l'ensemble des virus d'un échantillon (approche 'virome'), permettent de mettre en évidence la part immergée de l'iceberg de la diversité virale [16]. Ces techniques ont été relativement peu appliquées aux virus de plantes en Afrique, à l'exception de quelques études telle que Palanga et al [92] décrivant le virome du niébé au Burkina Faso. Mais elles sont en plein essor en conséquence de leur applications importantes gérer les risques phytosanitaires (voir [93] pour une revue). Bien que tous les virus ne soient pas des agents pathogènes chez les plantes (ils peuvent être bénéfiques [94]), ces nouvelles techniques de métagénomique sont un outil puissant pour documenter la biodiversité virale, générant des informations précieuses préalable à la description de leurs interactions avec leurs hôtes et aux recherches de méthodes de lutte.

Afin de caractériser la diversité microbienne associée aux rizières étudiées dans l'Ouest du Burkina Faso, nous avons appliqué l'approche VANA (Virion-Associated Nucleic Acids, voir par exemple [92]) avec Nils Poulicard et Martine Bangratz, et en collaboration avec l'équipe de Philippe Roumagnac (Cirad, UMR PHIM). Les séquences obtenues se sont révélées correspondre comme attendu au virus de panachure jaune du riz (RYMV) pour un certain nombre d'échantillons, mais nous avons de plus découvert des séquences virales inattendues pour le riz au Burkina Faso.

En particulier, nous avons découvert un virus de la famille des *Bymovirus*, proche du RNMV (*Rice necrosis mosaic virus*), un virus du riz transmis par un protiste du sol (*Polymyxa graminis*), décrit en 1967, n'ayant été jusqu'alors identifié qu'en Asie (Corée et Japon). Les séquences VANA-Illumina initiales ne permettant pas la reconstruction du génome complet, nous avons poursuivi les investigations en combinant des approches de séquençages Sanger et ONT Minlon, avec des difficultés dues à la conservation des échantillons, à la distance génétique entre ce virus et la référence la plus proche dans les bases de données, ainsi qu'aux co-infections avec le RYMV. Les résultats récemment acquis montrent que le génome de ce virus (**Figure 11a**) est très distant de son plus proche parent (génome du RNMV du Japon) avec pour l'ARN1: 68.2% d'homologie seulement au niveau nucléotidique (nt); 86.0% au niveau protéique (aa) et pour l'ARN2: 52.6% nt; 45.4% aa. Il s'agirait donc d'une nouvelle espèce virale.

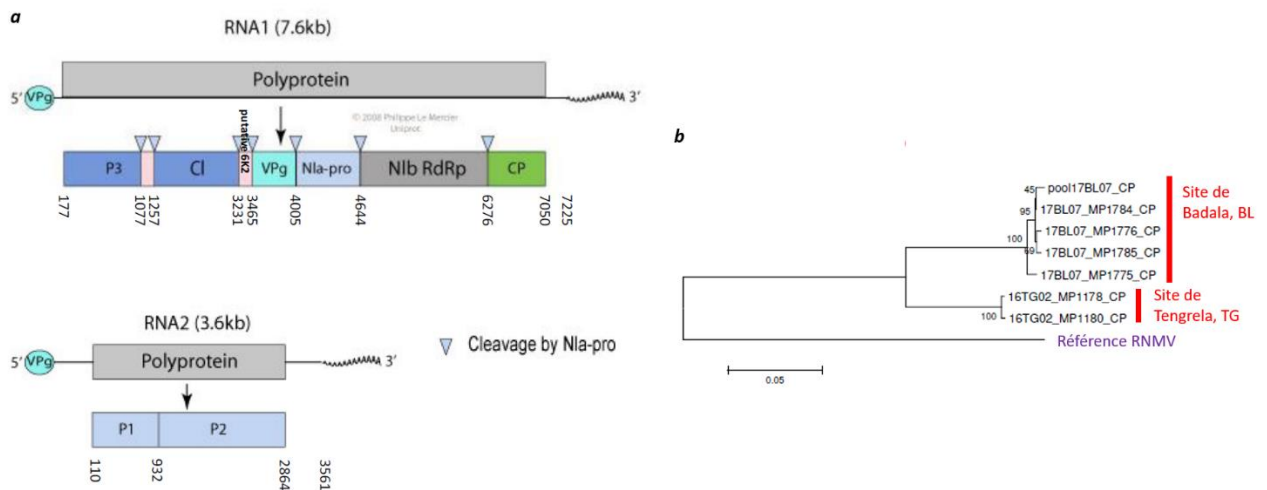
Des amorces spécifiques de ce virus, utiles pour le diagnostic (deux fragments : 178bp et 450bp) ont été dessinées. Il a ainsi été mis en évidence sur plusieurs années (notamment à Badala en 2017 et en 2021). Au sein des parcelles étudiées, le niveau de prévalence peut atteindre 25% (quatre plantes positives sur 16 plantes échantillonnées à BL07, site de Badala, en 2017). Ce virus est présent dans les trois zones d'études (**Figure 5**), avec une diversité génétique régionale assez importante au niveau des séquences de Coat Protein CP (0.162 substitutions/site entre les échantillons de Badala et Tengrela, **Figure 11b**).

Des tentatives d'infection expérimentale afin de décrire les symptômes induits par ce nouveau virus sont en cours au Burkina Faso mais restent infructueuses jusqu'alors.

D'autres virus ont aussi été découverts dans les échantillons de riz collectés au Burkina Faso et analysés par VANA-Illumina, notamment des geminivirus (MSV, *Maize Streak Virus*, le virus de la striure du maïs, et le MSRV, *Maize Streak Reunion Virus*, un virus inconnu en Afrique de l'Ouest) [95], ainsi que plusieurs virus non encore décrits dans la littérature (familles des *Bromovirus* et *Tymovirus* notamment).

Figure 11 : Résultats obtenus sur le *Bymovirus* identifié chez le riz au Burkina Faso.

- Représentation schématique de la structure du génome, obtenu par homologie de séquences en acides aminés avec les plus proches virus connus.
- Arbre phylogénétique (méthode de Neighbor-Joining) incluant des échantillons issus de deux parcelles de sites (Badala et Tengrela) distants d'une centaine de kilomètres.



Les perspectives de ces travaux sont coordonnées par Nils Poulicard (projet ANR JCJC SPADYVA). Il a notamment déjà montré que le MSV est présent sur le riz au Burkina Faso avec deux souches : MSV-A, connue pour infecter le maïs partout dans le monde et causer des pertes économiques très importantes [95, 96] et MSV-G, absent du maïs mais majoritaire sur riz. Des manipulations réalisées avec un clone infectieux montrent que les deux souches infectent le riz, produisant des symptômes ressemblant à ceux du MSV sur maïs et réduisant la taille des plants. La capacité du riz à être infecté par le MSV avait été montrée expérimentalement par le passé [97], mais ces résultats constituent la première étude incluant des données moléculaires et montrant le riz 'naturellement' infecté au champ.

Ces données ne sont pas encore publiées mais trois publications sont en cours de préparation.

Ce travail élargit notre connaissance du cortège parasitaire du riz au Burkina Faso par la mise en évidence d'agents pathogènes inconnus. La poursuite de ce travail inclurait la détection

systematique de ces nouveaux virus dans les échantillons collectés entre 2015 et 2019. De nouvelles co-infections 'virus-virus' seraient ainsi détectées. Par exemple, nous avons déjà montré que parmi les quatre plantes infectées par le *Bymovirus*, sur 16 plantes échantillonnées à BL07, site de Badala, en 2017, deux sont aussi infectées par le RYMV.

Plus largement, l'étude des infections multiples inclurait la diversité de ces virus mais aussi des autres agents pathogènes, vers une meilleure appréhension de la complexité de la diversité microbienne associée au riz dans les sites étudiés.

Quelques éléments de discussion pour conclure sur les travaux de recherche

Le vaste travail de terrain que j'ai mené au Burkina Faso en collaboration avec l'INERA (voir [Figure 5](#) et [Tableau p46](#)) a été mis en place dans le cadre du projet '*e-Space*' (voir la liste des projets p06) pour comparer la riziculture irriguée et la riziculture de bas-fond. Il s'inscrit dans un contexte plus large de l'étude de l'effet de l'intensification agricole sur les maladies et les communautés microbiennes associées aux cultures. L'intensification agricole est ici vue au sens large, comme un changement de pratiques (notamment la fertilisation) et une diminution de la biodiversité végétale.

Dans une réflexion conjointe au sein du projet '*e-Space*', une étude a aussi été menée dans l'agrosystème rizicole des terrasses du Yuanyang, vieux de plus de 1300 ans, où la extrême diversité génétique des variétés de riz cultivées est probablement à l'origine de la rareté des épidémies [98]. Récemment des variétés modernes ont été introduites, dont le microbiome est différent de celui des variétés traditionnelles (mais leurs niveaux de diversités ne sont pas significativement différents). Le microbiome racinaire est globalement très riche dans ce système, tel un miroir de la diversité des variétés cultivées [99]. En outre, une étude du virome a montré la présence du Rice Black-Streaked Dwarf Virus (RBSDV) avec des prévalences importantes et des différences entre variétés [100]. La question se pose ainsi des conséquences des changements récents dans cet agrosystème sur le risque d'émergence des maladies du riz.

L'intensification agricole agit à plusieurs niveaux. En particulier, l'effet de la fertilisation sur les maladies des cultures est bien documenté, et cela joue probablement un rôle important dans les résultats que nous avons obtenus au niveau des symptômes plus fréquents dans les périmètres irrigués et des communautés microbiennes associées aux racines plus riches.

Cependant d'autres facteurs sont aussi importants, et notamment celui de la biodiversité végétale au sens large, incluant la diversité d'espèces et de variétés cultivées (simultanément ou en rotation), mais aussi les plantes voisines (sauvages ou cultivées). Ainsi les rotations entre

céréales et légumineuses réduisent les dégâts liés au maladie, et ce indépendamment de l'apport de fertilisation [101].

Au sein de l'espèce cultivée, la diversité génétique des hôtes peut procurer une sorte de protection contre les agents pathogènes [102], avec quelques études ayant montré l'effet de la biodiversité sur l'intensité de l'infection par des virus de plantes [103, 104]. De même, en populations naturelles, dans la metapopulation de plantain lancéolé de l'archipel d'Åland, les patrons de liens entre biodiversité végétale et infection dans les sous-populations en paysage naturel ont été comparés à des sous-populations situées en bordure de champs cultivées. Les résultats montrent que la biodiversité virale était négativement corrélée à la biodiversité des plantes dans les populations naturelles, tandis que ce n'était pas le cas dans les populations situées en bordure de champs cultivées [105]. En outre, comme montré précédemment pour les champignons (*Publication 14*), une forte connectivité entre populations de plantes hôtes est corrélée à une diminution des prévalences d'infection virale [105], probablement en conséquence d'une résistance plus forte dans les populations bien connectées, résultant de la sélection naturelle exercée par les agents pathogènes dans les populations naturelles.

Ainsi, pour les espèces cultivées, le maintien de la diversité des plantes (intra- et inter-spécifique) joue un rôle fondamental pour la protection des cultures [106]. Au contraire, les monocultures à grande échelle et l'intensification constituent un risque face aux agents pathogènes, et pas seulement en termes d'épidémies végétales, mais aussi au niveau de la santé animale ou humaine [107]. Ce lien entre santé des plantes, des animaux et des hommes (concept de 'One Health' = 'Une seule santé') est aussi illustré pour notre modèle biologique : les périmètres irrigués rizicoles sont ainsi des lieux de plus forte transmission du paludisme en Afrique [108].

Tableau: Bilan partiel des résultats obtenus dans les six sites d'étude lors des campagnes d'observations et d'échantillonnages réalisées entre 2015 et 2019 dans l'Ouest du Burkina Faso, en termes de maladies majeures du riz (symptômes observés entre 2016 et 2019), de diversité génétique du riz (marqueurs SNP, échantillonnage 2018) et de diversité microbienne associée aux racines du riz (approche metabarcoding, échantillonnage 2018). IR : riziculture irriguée ; BF : bas-fonds

Zone géographique	Site	Type de riziculture	Latitude Longitude	Nombre parcelles étudiées 2015/16/17/18/19	Maladies (période 2016-19) Fréquence de parcelles avec symptômes Fréquence de plantes symptomatiques				Diversité génétique du riz (2018)	Richesse spécifique du microbiome racinaire (2018) Rhizosphère Racines	
					RYMV	BLS	Pyriculariose	Helminthosporiose		Bactéries (16S)	Champignons (ITS)
Bama	Badala BL	BF	11.368	0/6/8/7/6	48.1%	37.0%	29.6%	51.9%	0.117	238.1	75.0
			-4.373		6.0%	3.9%	3.5%	15.7%		300.3	39.7
	Bama BM	IR	11.390 -4.410	0/10/8/9/7	5.9% 0.6%	50.0% 14.7%	52.9% 8.6%	82.4% 35.1%	0.131	279.8 273.6	58.8 42.5
Banzon	Senzon SZ	BF	11.288	0/5/7/7/7	23.1%	15.4%	23.1%	88.5%	0.124	108.0	76.7
			-4.829		1.9%	1.9%	4.1%	45.4%		263.1	40.7
	Banzon BZ	IR	11.335 -4.796	12/8/8/11/6	75.8% 23.3%	48.5% 8.5%	48.5% 9.1%	81.8% 31.6%	0.108	201.3 248.9	57.3 39.0
Karfiguela	Tengrela TG	BF	10.648	0/5/7/7/6	24.0%	12.0%	48.0%	92.0%	0.132	84.9	75.7
			-4.838		6.0%	1.0%	14.3%	39.0%		163.4	69.3
	Karfiguela KA	IR	10.678 -4.813	12/9/8/9/8	5.9% 0.2%	29.4% 7.2%	61.8% 18.4%	82.4% 27.8%	0.130	344.3 342.9	77.0 42.3
Moyenne	-	-	-	0/7.2/7.7/8.3/6.7	30.5% 6.3%	32.1% 6.2%	44.0% 9.7%	79.8% 32.4%	0.124	209.4 265.4	70.1 45.6
Global	-	-	-	24/43/46/50/40	30.2% 6.5%	33.5% 6.7%	45.3% 9.9%	79.9% 32.2%	0.137		

Projet de recherche

Mes perspectives de recherche se placent dans la continuité des activités en cours. Je poursuis mes activités en partenariat avec mes collègues de la sous-région ouest-africaine, en particulier l'INERA au Burkina Faso.

Au cours des années à venir, mes activités de recherche se focaliseront plus particulièrement sur les aspects de la **biologie évolutive des populations d'agents pathogènes en contexte de co-infection**.

En particulier, je prévois de me focaliser sur les conséquences évolutives de la co-infection au travers de trois questions spécifiques :

- 1) l'impact de la co-infection sur la structuration des agents pathogènes ;
- 2) la caractérisation de la diversité génétique intra-hôte chez les virus ;
- 3) l'effet de la co-infection sur l'évolution expérimentale d'un virus de plante.

Ces questions de recherche sont incluses dans le projet EVCOPAR, et donc le travail prévu pendant les deux prochaines années (2022-2023) est déjà financé par l'ANR.

Objectif global : Focus sur les conséquences évolutives de la co-infection

La co-infection peut avoir des effets sur l'expression des symptômes et la multiplication intra-plante, ces aspects ont été bien documentés pour certains modèles biologiques [26, 28] (voir p20). En outre, tel que nous l'avons mis en avant dans notre revue parue dans *Trends in Plant Science* en 2016 (*Publication 15*), de tels effets à l'échelle de la plante ont le potentiel pour induire des effets à l'échelle populationnelle, avec donc des conséquences épidémiologiques et évolutives de la co-infection, appelant la prise en compte d'une réalité biologique plus large que le couple à deux espèces : un hôte/un agent pathogène [109]. Les infections multiples ont ainsi des effets significatifs, mais souvent imprévisibles sur la virulence globale (dégâts causés à l'hôte) et la transmission des agents pathogènes.

Malgré leurs conséquences importantes pour la gestion des maladies dans les cultures, les conséquences populationnelles en termes d'évolution des agents pathogènes et d'épidémiologie restent peu explorées pour les maladies des plantes.

La dynamique des agents pathogènes pouvant être influencée par la présence d'autres micro-organismes, notamment d'autres agents pathogènes en co-infection, la prédire peut nécessiter la prise en compte de la communauté d'agents pathogènes susceptible d'infecter simultanément un même hôte [110]. Plusieurs études ont montré que l'effet de la co-infection sur les pressions de sélection appliquées à chacune des populations de pathogènes peut conduire à des modifications drastiques de l'évolution de la virulence [111, 112]. Chez la souris par exemple, des compétitions expérimentales ont montré que la présence d'une autre

bactérie en co-infection conduit à la sélection de souches plus virulentes de *Streptococcus pneumonia* [113]. Le changement de la valeur sélective effective de chacun des génotypes d'agent pathogène peut avoir des conséquences importantes sur l'évolution des populations, contribuant au maintien de la variabilité au sein des populations de parasites, tel qu'illustré par une étude sur des parasites de poisson [62]. Un travail de modélisation a aussi montré que la présence d'une souche mutante était capable de 'sauver' une souche maladaptée de l'extinction [114]. Ainsi, la facilitation en contexte de coinfection peut contribuer ainsi au maintien sur le long terme de la diversité de deux souches d'agents pathogènes même si l'un est peu performant en infection simple. Cela a été montré pour *Pseudomonas syringae* chez *Arabidopsis thaliana* : maintien dans la population d'une souche ayant un système de sécrétion de type 3 défaillant [115]. Aussi, pour un virus de la tomate, deux souches de *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) coexistent sur le long terme, ce qui ne peut pas s'expliquer par la mesure de leur valeur sélective en infection simple mais seulement en co-infection [32].

La co-infection a aussi un impact sur l'épidémiologie. Par exemple, les plantes co-infectées sont responsables de la transmission de plus de propagules chez un agent pathogène fongique [116] et les interactions intra-hôtes déterminent la sévérité des épidémies chez des parasites de daphnies [117]. Les conséquences de la co-infection peuvent aussi être complexes, agissant différemment sur différents aspects du cycle de l'agent pathogène. Ainsi, chez le plantain lancéolé de l'archipel d'Åland, la co-infection ou non avec un virus (*Plantago lanceolata latent virus*, PILV) modifie le compromis entre niveau d'infection intra-hôte et transmission pour le champignon *Phomopsis subordinaria* [119].

La dynamique des maladies peut enfin être directement affectée par l'évolution des populations de pathogènes, elle-même affectée par la co-infection. Prendre en compte l'épidémiologie dans l'évolution des populations de pathogènes peut changer quantitativement les dynamiques, tel que représenté par la notion de rétroaction éco-évolutive ('eco-evolutionary feedbacks') [118]. Des interactions complexes entre évolution et épidémiologie peuvent émerger et cela reste à explorer en prenant en compte l'effet des infections multiples.

Nous visons à tester l'hypothèse suivante : la co-infection (entre plusieurs espèces ou bien plusieurs génotypes) affecte les trajectoires évolutives des agents pathogènes et la dynamique épidémique des maladies. Pour ce faire, une combinaison de travail de terrain mené au Burkina Faso, d'infections expérimentales et de génomique virale et bactérienne est prévue (**Figure 12**).

Tout d'abord, nous décrirons les structures génétiques des populations du RYMV et de la bactérie Xo dans des sites où ces maladies sont fréquentes et ont des incidences fortes ('hotspots'). L'hypothèse testée est que la co-infection affecte la structuration des agents pathogènes impliqués.

Des approches innovantes de séquençage seront réalisées en particulier pour le cas du virus RYMV, afin de mettre en évidence la diversité intra-plante des populations virales, en termes

de quasi-espèce virale (mutations récentes au sein de la plante infectée) et du cas de plusieurs infections indépendantes entre plusieurs groupes génétiques distincts.

Enfin, des approches d'évolution expérimentale seront initiées : les populations virales (RYMV) ayant évolué en contexte d'infection simple seront comparées à celles ayant évolué en co-infection (présence de la bactérie *Xo* ou d'un autre génotype de RYMV), à la fois en termes de génomique et de phénotype (charge virale et virulence sur riz sensible et capacité à contourner la résistance du riz).

Bien que les maladies du riz soient l'objet de nombreuses études, de par l'importance de cette culture dans l'alimentation humaine, les projets de recherche incluant l'étude simultanée de plusieurs maladies restent rares. C'est aussi le cas plus généralement en phytopathologie, voire dans la littérature sur les interactions hôtes/pathogènes en général (y compris animaux), avec peu d'études combinant travail de terrain avec des travaux expérimentaux et génétiques visant à décrypter l'impact des interactions intra-hôte entre plusieurs espèces ou génotypes d'agents pathogènes sur l'évolution des populations et la dynamique des maladies.

Globalement, mon objectif est de développer une approche populationnelle principalement axée sur l'évolution et l'épidémiologie des agents pathogènes, appliquée à un pathosystème d'importance agronomique majeure, avec des enseignements cruciaux pour une gestion intégrée des maladies des cultures, et donc la santé des plantes qui est un enjeu de sécurité alimentaire en Afrique subsaharienne.

Ce projet sera mené au sein de l'UMR PHIM, qui comprend des spécialistes de différentes maladies du riz, plus particulièrement dans l'équipe VICITA (compétences pluridisciplinaires notamment en génomique virale, mécanismes des interactions plante-virus, diversité génétique des virus) et en partenariat avec des collègues phytopathologistes au Burkina Faso, apportant des compétences complémentaires et un accès au terrain rizicole.

Un nouvel échantillonnage de feuilles de riz au Burkina Faso pour répondre à ces objectifs

Un nouveau protocole d'observations et échantillonnage dans les rizières a été établi afin de répondre spécifiquement aux problématiques des infections multiples impliquant le virus RYMV et les bactérioses à *Xanthomonas oryzae*. Ce protocole a été réalisé en 2021 (données en cours d'analyse) et sera renouvelé en 2022.

Notre objectif était de se placer dans des sites où les maladies sont fortement présentes (sites 'hotspot'). Pour ce faire, nos données collectées entre 2015 et 2019 (voir [Figure 6](#) et [Figure 7](#)), ainsi que les connaissances des partenaires de l'INERA et la littérature, ont permis de sélectionner trois sites d'étude.

Au sein de chacun de ces sites, des visites seront effectuées pendant la saison humide (septembre à novembre). Une dizaine de champs sont sélectionnés dans chaque site, sur la base de leur infection par au moins l'une des deux maladies (et idéalement les deux).

Dans chacun des champs étudiés (30 au total par an), un échantillonnage de type 'aléatoire stratifié' ('*stratified random*') est réalisé au stade 'maximum tallage'. La parcelle (25 mètres de côté) sera divisée selon une grille comprenant 16 quadrats.

Dans chacun de ces quadrats, entre un et cinq échantillons seront collectés, de préférence des échantillons symptomatiques pour la virose, la bactériose ou bien les deux maladies (mais si un quadrat ne comprend pas d'échantillon symptomatique, un échantillon sera malgré tout prélevé). Ainsi, jusqu'à 2 400 (30 champs*16 quadrats*5 échantillons) plantes pourront être étudiées chaque année.

Chaque échantillon consiste en un lot de trois feuilles de riz, placé dans une enveloppe, dans un sachet contenant du silicagel. Les échantillons ensuite divisés en deux parties pour chacun des partenaires du projet (INERA Burkina Faso et IRD Montpellier) et congelés à -20°C.

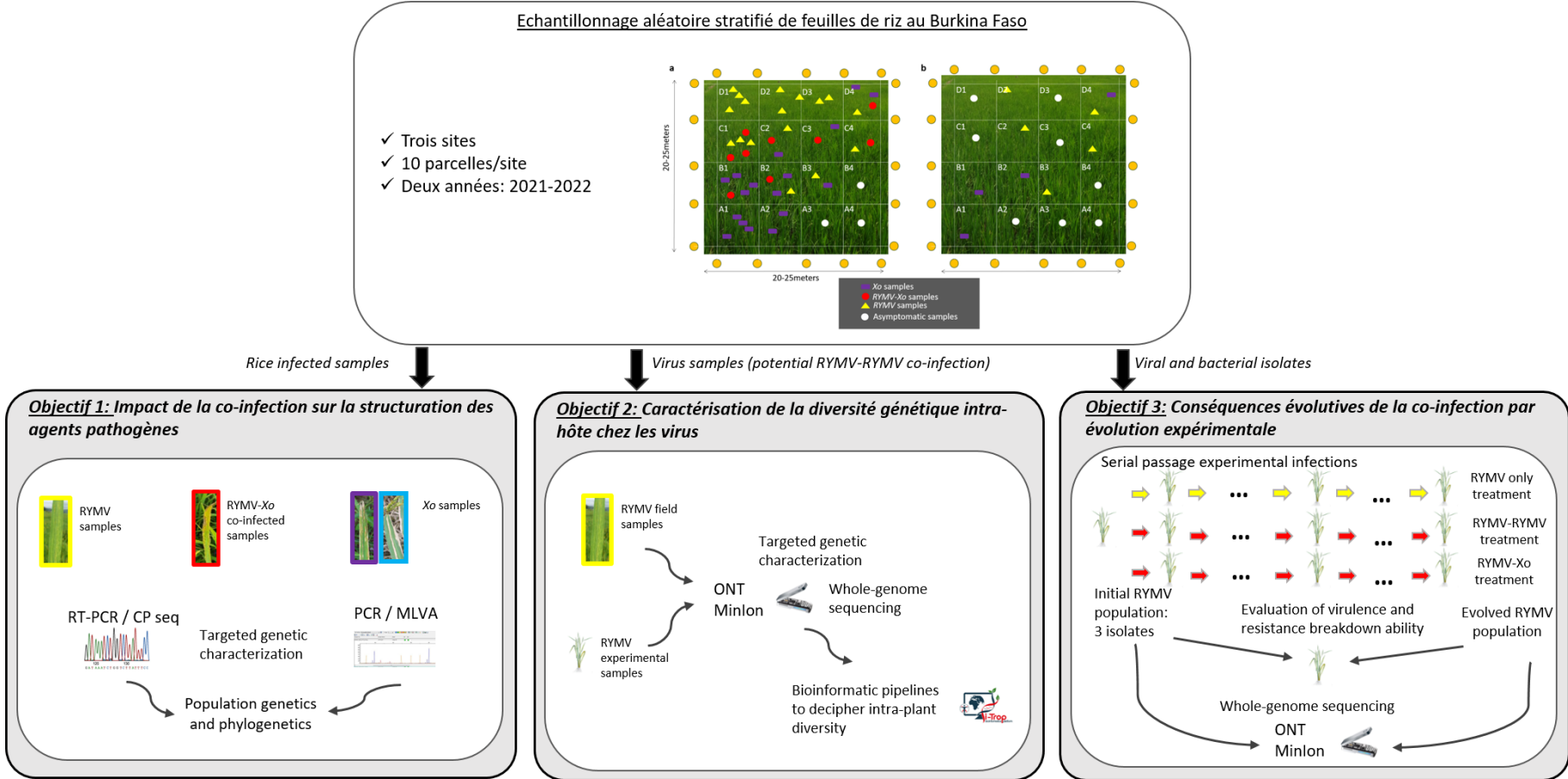
En plus de répondre aux objectifs spécifiques du projet de recherche, ce travail permettra de mettre à jour la collection d'isolats de virus RYMV et de bactéries *Xo* circulant dans les rizières du Burkina Faso (avec des échantillons pouvant être utilisés non seulement pour étudier la diversité génétique, mais aussi leur pathogénicité).

En outre, des enquêtes auprès des producteurs permettront de collecter les informations majeures sur chaque champ étudié : variété de riz, itinéraire de fertilisation, rotation, type de semis, etc

Des photos de six maladies majeures du riz (panachure jaune, bactériose vasculaire, bactériose à stries foliaires, pyriculariose, helminthosporiose et curvulariose) sont présentées aux producteurs afin de leur demander leur perception, en termes de fréquence d'une part, et de dégâts associés d'autre part, de chacune des maladies.

Ces informations, de même que les données d'observations de symptômes sont saisies sur smartphone en utilisant l'application KoboCollect.

Figure 12 : Représentation schématique de l'ensemble du projet de recherche présenté



Objectif 1 : Impact de la co-infection sur la structuration des agents pathogènes

Nous visons à décrire la structuration génétique des populations d'agents pathogènes du riz dans des sites fortement touchés par ces maladies.

Des résultats ont déjà été obtenus pour le virus de la panachure jaune du riz dans le site de Banzon (voir [Figure 10](#)). Pour cette virose, il s'agira de poursuivre la dynamique temporelle du RYMV à Banzon, et d'étudier en outre un à deux sites supplémentaires, pour les années 2021 et 2022. Pour la bactériose du riz, des échantillons collectés entre 2015 et 2019 sont disponibles et leur caractérisation de la diversité génétique est en cours de finalisation (voir p41).

Un travail de diagnostic sera tout d'abord réalisé sur l'ensemble des échantillons avec une extraction d'acides nucléiques (ADN / ARN), suivie d'une RT et une PCR multiplex avec des amorces RYMV et *Xo*. Cette étape permettra probablement de détecter d'autres échantillons porteurs des agents pathogènes étudiés (en plus des échantillons symptomatiques), et ainsi de mettre à jour la fréquence des co-infections RYMV-*Xo* sur la base de données moléculaires.

Ensuite, la diversité génétique de chacun des deux agents pathogènes sera étudiée selon des méthodologies éprouvées. Le séquençage (Sanger) de la région CP (voir aussi p39) sera ainsi réalisée pour tous les échantillons présentant du virus RYMV. En outre, pour chaque échantillon présentant la bactérie *Xo*, nous suivrons le protocole de génotypage MLVA des *Xo* [91] (voir p41).

Si possible ces données génétiques seront complétées par des données expérimentales permettant d'évaluer la pathogénie des groupes génétiques obtenus (voir p40 pour le RYMV).

L'analyse des données obtenues permettra tout d'abord de mettre à jour nos connaissances sur la diversité génétique de chacun des agents pathogènes étudiés indépendamment. En effet, ces données complèteront l'étude réalisée entre 2015 et 2019. Même si le protocole d'échantillonnage est différent pour cette nouvelle campagne 2021-2022 ; les résultats pourront être discutés sur l'ensemble de la période (8 ans). Cela pourrait apporter une nouvelle vision de la dynamique de la diversité génétique des populations de ces deux agents pathogènes majeurs du riz.

En outre, afin de tester notre hypothèse d'un effet de la co-infection sur la structuration génétique des populations, nous analyserons la structure de chaque agent pathogène à une échelle fine (intra-champ), au regard de la présence de l'autre agent pathogène, voire au regard de la présence de chacun des génotypes de cet autre agent pathogène en interaction. Nous analyserons ainsi, par exemple, si certains génotypes viraux se retrouvent plus rarement associés à la présence de la bactérie en co-infection. Un tel patron peut être attendu sachant qu'une interaction réciproque existe entre les deux agents pathogènes considérés, avec un effet négatif sur le virus, et que les génotypes viraux ne sont pas tous affectés de la même manière par la co-infection (voir [Figure 4](#)).

Objectif 2: Caractérisation de la diversité génétique intra-hôte chez les virus

L'analyse génétique des échantillons de riz infectés par RYMV, *X. oryzae* ou les deux révélera probablement des suspicions d'échantillons co-infectés par plusieurs génotypes au sein de chaque espèce (au travers de double pics dans les séquençages Sanger de la CP RYMV, et dans les génotypages de Multi Locus VNTR chez *Xo*). Je me focaliserai sur le travail portant sur le virus RYMV, tandis que celui sur les bactéries *Xo* est porté par Sebastien Cunnac et Mathilde Hutin (projet financé par le Labex Agropolis).

Ces échantillons suspectés de présenter plusieurs isolats de RYMV seront analysés par séquençage de troisième génération : Oxford Nanopore Technology (ONT), permettant l'obtention de longues séquences. Au préalable, une validation de la méthodologie est en cours, avec le séquençage d'échantillons co-infectés artificiellement (mélange de deux plantes infectées chacune par un isolat de RYMV différent) par différentes méthodes moléculaires préalables au séquençage : reverse transcription avec des amorces spécifiques au RYMV, oligo-dT (comme [120]), ou bien aléatoires (voir [121]). En effet, bien que le virus RYMV n'ait pas de terminaison poly-A, nos résultats préliminaires ont montré que le RYMV est bien séquencé en utilisant des amorces oligo dT (résultat non attendu, obtenu dans l'objectif de séquencer le *Bymovirus*, voir p42-43). Les niveaux de multiplexage seront aussi testés afin d'obtenir des données de qualité optimale tout en contrôlant le coût des manipulations.

Les objectifs sont : **1/** de détecter la présence ou non d'une co infection de plusieurs souches du RYMV, et **2/** de caractériser les génomes des différentes souches. Ainsi, nous pourrions reconstruire les génotypes viraux co-infectant simultanément une même plante. En outre, et bien que cet objectif soit probablement difficile à réaliser, nous tenterons aussi de quantifier les proportions de chacune des souches en mélange au sein de la plante.

Pour ce faire, les outils bio-informatiques disponibles seront testés, tels que par exemple le programme NANO Q, mis au point pour le virus de l'hépatite C [122], ou encore Variabel, qui a été mis au point pour analyser des données de séquençage de SARS-CoV-2 [123]. De nouveaux outils adaptés à nos besoins pourraient être mis au point si besoin.

Ces techniques de séquençage de troisième génération offrent de belles promesses pour l'avenir dans différentes disciplines, dont la virologie végétale [120]. En outre, cette technique est plus facilement susceptible d'être appliquée dans les pays du Sud tel que le Burkina Faso, grâce à la portabilité des séquenceurs [124, 125]. Ici, elles nous permettent de répondre à des questions qui pouvaient difficilement être abordées par les méthodes classiques. La diversité virale pourra ainsi être abordée, non plus seulement à l'échelle de la population de plantes, mais plutôt à l'échelle intra-plante, offrant de belles perspectives, pour les céréales comme le riz, mais aussi notamment pour les plantes pérennes. Inclure la diversité intra-hôte dans notre appréhension de la biodiversité virale permet une meilleure compréhension des mécanismes d'évolution virale, y compris ceux agissant lors des émergences de nouvelles épidémies.

Objectif 3 : Conséquences évolutives de la co-infection par une approche d'évolution expérimentale

Des expériences d'évolution expérimentale (passages en série) vont être lancés afin de tester l'effet de la présence/absence d'un autre agent pathogène en co-infection (soit une autre espèce, ici *Xanthomonas oryzae* Xo, soit un autre isolat de la même espèce, ici un autre isolat de RYMV) sur la trajectoire évolutive de la population de virus de la panachure jaune du riz (RYMV).

En effet, sachant que la présence de Xo réduit la charge virale de RYMV en co-infection expérimentale, par rapport au témoin mono-inoculé (**Figure 4**), nous pouvons attendre un effet de goulot d'étranglement de la population de RYMV, réduisant la diversité virale intra-plante, en co-infection avec la bactérie, par rapport au contexte d'infection simple par RYMV. En outre, nous savons que les isolats viraux de RYMV ont des capacités contrastées de contournement de la résistance du riz [126], mais les conséquences des co-infections par plusieurs isolats de RYMV (RYMV-RYMV) sur la résistance génétique du riz (possible complémentarité, i.e. le 'sauvetage' d'isolats incapable de se développer dans des plantes résistantes, par la présence d'un isolat capable de contournement) n'ont jamais été étudiées. Enfin, et plus généralement, les pressions de sélection sont affectées par les interactions intra-plante entre agents pathogènes en co-infection, si bien que l'issue de l'évolution des populations de pathogènes, en termes de virulence, seront probablement affectées par la présence/absence d'une autre espèce ou un autre génotype d'agent pathogène [111].

Les traitements réalisés incluront **1/** des contextes de co-infection, avec Xo, ou avec un autre isolat de RYMV et **2/** des témoins en mono-infection. Ces traitements seront réalisés sur trois isolats de RYMV représentant un échantillon de la diversité de RYMV présent dans les sites d'étude (**Figure 10** et résultats à venir, voir p52).

Les interactions entre RYMV et Xo dépendant du génotype de RYMV considéré (**Figure 4**), les trois isolats utilisés en évolution expérimentale seront choisis sur la base d'une expérience préliminaire évaluant l'effet de Xo (isolat issu du même site que RYMV) sur un lot de 12 isolats de RYMV (quatre isolats pour chacun des trois groupes génétiques majoritaires, les mêmes qu'étudiés en infection simple, voir p40) représentant la diversité génétique des sites d'étude. A partir de cette expérience préliminaire, nous sélectionnerons les patrons les plus contrastés en termes d'impact de la co-infection, pour la suite des expérimentations.

Les expériences d'évolution expérimentale comprendront 10 conditions (chacun des trois isolats de RYMV en co-infection avec les autres isolats de RYMV ou avec Xo, et les témoins mono-infectés, plus le témoin non infecté), sur une variété de riz très sensible, IR64 et une variété résistante, Gigante, ce qui conduit à un total de 20 traitements.

Chacun de ces traitements sera répété 3 fois, ce qui constitue 60 comparaisons de populations 'initiales' vs 'évoluées'. Les passages en série seront réalisés tous les 14 jours, avec un total de 6 passages, la durée totale de l'expérience étant estimée à 3.5 mois.

Les phénotypes des populations virales 'initiales' et 'évoluées' seront caractérisés grâce à des expériences d'infections expérimentales sur un lot de six variétés de riz (les deux variétés utilisées pour les passages en série et quatre autres, sélectionnées pour représenter les différents allèles/gènes de résistance au RYMV chez le riz, voir [127] et les références incluses). L'issue de ces infections sera évaluée en terme de symptômes et de charge virale intra-plante (selon des méthodologies similaires à celles utilisées actuellement, voir p40).

Puis, sur la base de ces résultats phénotypiques (symptômes et multiplication intra-plante), nous sélectionnerons un sous-échantillon de paires d'isolats de RYMV et variétés de riz (par exemple, montrant des phénotypes de contournement de la résistance ou bien de virulence accrue sur riz sensible) pour des comparaisons de la génétique des populations virales initiales vs évoluées. Pour ce faire, des séquençages génomiques seront réalisés par technique ONT (voir p53) afin d'identifier les régions génomiques affectées, voire les mutations ponctuelles impliquées

L'ensemble de ces expérimentations, à venir dans les serres tropicales de l'IRD à Montpellier, permettra d'obtenir **1/** des résultats plus détaillés sur les effets « génotypes-spécifiques » des interactions RYMV-Xoc (voir p25), incluant potentiellement des différences entre isolats partageant les mêmes sites, et donc potentiellement des conséquences évolutives, **2/** des résultats sur la composition génétique et la virulence de populations virales ayant évolué expérimentalement dans un contexte de co-infection, soit avec d'autres génotypes, soit avec d'autres espèces, avec potentiellement la mise en évidence d'isolats contournant la résistance ou avec des niveaux de virulence modifiés.

Ces résultats seront analysés à la lumière de ceux obtenus pour répondre aux objectifs 1 et 2. Ainsi, par exemple, nous tenterons alors d'identifier des régions génomiques impliquées dans la réponse ou non, à l'effet de la co-infection. Les génomes et fonctions des gènes sont bien connues pour ces agents pathogènes du riz [126, 128, 129], si bien que des régions génomiques divergentes qui pourraient être identifiées au cours de ce projet, pourraient ensuite être assigner à des fonctions spécifiques chez les agents pathogènes considérés.

Conclusion

Implications pour la compréhension de la dynamique des interactions hôtes / agents pathogènes

La compréhension de la dynamique de la biodiversité est un enjeu majeur des recherches sur le monde vivant. Les interactions entre les hôtes et leurs agents pathogènes sont des moteurs d'évolution de la diversité importants dans ce contexte, car ils peuvent avoir lieu sur des échelles de temps écologiques (vie des organismes et période des épidémies).

D'une part, les populations d'hôtes s'adaptent face aux pressions de sélection imposées par les agents pathogènes, et variables géographiquement, tel qu'illustré par nos résultats sur les rongeurs (*Publication 1, 2, 3, 6, 7, 9*) et les plantes sauvages (*Publication 14*).

En retour, les agents pathogènes s'adaptent face à leurs hôtes et aux facteurs abiotiques de l'environnement (*Publication 10*). La diversité génétique des agents pathogènes peut être localement forte, structurée géographiquement, et contribue à déterminer l'intensité des épidémies, tel qu'illustré par nos résultats sur un champignon pathogène du plantain (*Publications 8 et 13*) et un virus du riz (résultats non publiés sur le virus de la panachure jaune, p39-40). Dans le premier système cité (plantain-oïdium), des résultats récents montrent que les épidémies les plus fortes ont lieu dans les parcelles où les populations d'agents pathogènes sont les plus diversifiées génétiquement, avec des souches ayant des valeurs sélectives homogènes [130]. Les perspectives de nos travaux évalueront si des résultats similaires peuvent être obtenus dans notre pathosystème, avec une plante cultivée comme le riz.

Outre l'hôte et l'environnement abiotique, l'environnement biotique des agents pathogènes a un effet sur la dynamique des épidémies (comme par exemple l'effet d'un hyperparasite sur la survie hivernale d'un champignon pathogène du plantain, *Publication 11*; et l'exploration de ces questions sur le microbiome du riz, résultats en preprint, p35-38). Cet environnement biotique comprend les autres agents pathogènes pouvant infecter simultanément un même hôte : contexte de co-infection. Ces co-infections sont fréquentes (*Publication 15*), que ce soit entre plusieurs génotypes de la même espèce (*Publication 8*) ou entre différentes espèces d'agents pathogènes intra-règne (chez les bactéries pathogènes du riz *Publication 17*, résultats non publiés sur le virome du riz, p42-43) ou entre règnes (co-infections virus-bactéries, *Publication 16*). La co-infection a un effet sur les symptômes induits et la multiplication des agents pathogènes (revue dans *Publication 15*, exemple de la co-infection virus-bactérie chez le riz, *Publication 16*). En santé animale et humaine, les interactions virus-bactéries ont aussi des conséquences. Par exemple, les bactéries du genre *Wolbachia* diminuent la charge virale et augmentent la résistance des drosophiles à certains virus [131] ou encore, des bactéries du fumier inactivent le virus de l'hépatite A [132].

De façon générale, les communautés de micro-organismes évoluent (en termes de composition, d'abondance spécifique et de diversité génétique) rapidement [110]. L'évolution de la population peut conduire à l'acquisition de nouvelles capacités écologiques (nouvelle niche), comme en témoigne l'exemple de l'évolution de la résistance aux antibiotiques, un enjeu majeur de santé publique. La modification des hiérarchies de compétition au sein des communautés microbiennes conduit à des processus éco-évolutifs complexes [84, 110], rendant indispensable le développement d'une approche holistique des interactions et de la dynamique de la biodiversité chez les hôtes et les agents pathogènes.

Applications pour le contrôle des maladies des cultures

La population mondiale est estimée pour atteindre 9.6 milliards de personnes en 2050, conduisant à une forte augmentation des besoins alimentaires [133, 134]. L'Afrique subsaharienne est la région du monde où la différence entre la consommation de céréale et sa production est la plus forte, et on attend une multiplication par trois de la demande entre 2010 et 2050 [135]. Les pertes dues aux bio-agresseurs sont estimées entre 17 et 30% à l'échelle mondiale, les dégâts les plus importants étant observés dans les régions déficitaires en production, avec une forte croissance de la population [56]. Ces pertes drastiques montrent l'importance de développer de fortes stratégies de surveillance des maladies des cultures [136] avec des solutions de contrôle basées sur la science, et respectueuses de la santé des hommes et de l'environnement.

Tandis que les médias restent focalisés sur la situation actuelle de pandémie, le monde reste vulnérable aux maladies des cultures, qui, comme la Covid, peuvent se propager rapidement dans le monde. La recherche scientifique se doit de développer de nouvelles approches pour faire face à ce risque.

La résistance génétique des plantes est la stratégie majeure pour contrôler les maladies des plantes sans recours aux pesticides [137]. Un déploiement efficace des résistances nécessite des connaissances détaillées sur les patrons spatio-temporels de 1) l'incidence des maladies considérées, et 2) la diversité génétique des agents pathogènes responsables. Ainsi un bio-monitoring des agents pathogènes des cultures, avec des technologies modernes et associé aux informations sur l'agrosystème ('Next-generation biomonitoring' [138]) sont ainsi extrêmement utiles pour les meilleures décisions de déploiement des résistances.

Cependant, l'une des limites majeures de la résistance génétique est l'évolution de variants d'agents pathogènes contournant la résistance [139, 140]. La rapidité de l'évolution du contournement de résistance dépend des caractéristiques de l'interaction (mécanisme de résistance/contournement, mutations nécessaires et coûts associés) mais aussi de l'intensité de la pression de sélection. Ainsi, le contournement risque d'être d'autant plus rapide que les variétés résistantes sont largement cultivées. L'étude des mécanismes gouvernant l'évolution du contournement de résistance est un aspect extrêmement important et notre projet propose d'y inclure un aspect largement ignoré : la présence d'autres agents pathogènes ne

co-infection. En effet, les cultures ne sont pas soumises à un seul agent pathogène mais à l'attaque de nombreux bio-agresseurs. Par l'inclusion dans l'étude des interactions hôtes-pathogènes de la composante biotique de l'environnement et des interactions intra-hôtes (concept de pathobiome [11, 12], voir par exemple [141, 142]), ce projet contribue à apporter un nouveau regard sur la maladie, avec des conséquences importantes pour la santé des plantes. Il propose de considérer plusieurs maladies simultanément, ce qui pourrait permettre de découvrir des interactions entre méthodes de contrôle d'une ou l'autre des maladies étudiées et apporter des informations originales pour l'amélioration des méthodes de lutte.

L'étude des maladies des cultures et les solutions apportées par les recherches en phytopathologie sont indispensables pour atteindre l'objectif de sécurité alimentaire mondiale, énoncé sous le terme 'Faim Zero' dans les objectifs de développement durable des Nations Unies [143, 144].

Références citées

1. Laine AL, Hanski I. Large-scale spatial dynamics of a specialist plant pathogen in a fragmented landscape. *Journal of Ecology*. 2006;94(1):217-26. doi: DOI 10.1111/j.1365-2745.2005.01075.x. PubMed PMID: ISI:000234028800020.
2. Soubeyrand S, Laine AL, Hanski I, Penttinen A. Spatiotemporal structure of host-pathogen interactions in a metapopulation. *Am Nat*. 2009;174(3):308-20. Epub 2009/07/25. doi: 10.1086/603624. PubMed PMID: 19627233.
3. Laine AL. Spatial scale of local adaptation in a plant-pathogen metapopulation. *J Evol Biol*. 2005;18(4):930-8. Epub 2005/07/22. doi: JEB933 [pii] 10.1111/j.1420-9101.2005.00933.x. PubMed PMID: 16033565.
4. Laine AL. Detecting local adaptation in a natural plant-pathogen metapopulation: a laboratory vs. field transplant approach. *J Evol Biol*. 2007;20(5):1665-73. Epub 2007/08/24. doi: JEB1359 [pii] 10.1111/j.1420-9101.2007.01359.x. PubMed PMID: 17714283.
5. Laine AL. Resistance variation within and among host populations in a plant-pathogen metapopulation: implications for regional pathogen dynamics. *Journal of Ecology*. 2004;92(6):990-1000. PubMed PMID: ISI:000225631400007.
6. Laine AL. Pathogen fitness components and genotypes differ in their sensitivity to nutrient and temperature variation in a wild plant-pathogen association. *J Evol Biol*. 2007;20(6):2371-8. Epub 2007/10/25. doi: JEB1406 [pii] 10.1111/j.1420-9101.2007.01406.x. PubMed PMID: 17956398.

7. Agrios GN. Plant pathology, 5th edition. California: Academic Press; 2005.
8. Brader G, Compant S, Vescio K, Mitter B, Trognitz F, Ma LJ, et al. Ecology and Genomic Insights into Plant-Pathogenic and Plant-Nonpathogenic Endophytes. *Annual Review of Phytopathology*, Vol 55. 2017;55:61-83. doi: 10.1146/annurev-phyto-080516-035641. PubMed PMID: WOS:000407738700004.
9. Hunziker L, Bönisch D, Groenhagen U, Bailly A, Schulz S, Weisskopf L. Pseudomonas strains naturally associated with potato plants produce volatiles with high potential for inhibition of *Phytophthora infestans*. *Applied and environmental microbiology*. 2015;81(3):821-30. Epub 2014/11/14. doi: 10.1128/AEM.02999-14. PubMed PMID: 25398872.
10. Adame-Álvarez R-M, Mendiola-Soto J, Heil M. Order of arrival shifts endophyte–pathogen interactions in bean from resistance induction to disease facilitation. *FEMS Microbiology Letters*. 2014;355(2):100-7. doi: 10.1111/1574-6968.12454.
11. Bass D, Stentiford GD, Wang HC, Koskella B, Tyler CR. The Pathobiome in Animal and Plant Diseases. *Trends in Ecology & Evolution*. 2019;34(11):996-1008. doi: 10.1016/j.tree.2019.07.012. PubMed PMID: WOS:000492691100008.
12. Vayssier-Taussat M, Albina E, Citti C, Cosson J-F, Jacques M-A, Lebrun M-H, et al. Shifting the paradigm from pathogens to pathobiome: new concepts in the light of meta-omics. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2014;4. doi: 10.3389/fcimb.2014.00029. PubMed PMID: WOS:000336120000006.
13. Syller J. Molecular and biological features of umbraviruses, the unusual plant viruses lacking genetic information for a capsid protein. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2003;63(1):35-46. doi: 10.1016/j.pmpp.2003.08.004. PubMed PMID: WOS:000187393000005.
14. Leach JE, Triplett LR, Argueso CT, Trivedi P. Communication in the Phytobiome. *Cell*. 2017;169(4):587-96. doi: 10.1016/j.cell.2017.04.025. PubMed PMID: WOS:000400560900006.
15. Bodenhausen N, Bortfeld-Miller M, Ackermann M, Vorholt JA. A Synthetic Community Approach Reveals Plant Genotypes Affecting the Phyllosphere Microbiota. *Plos Genetics*. 2014;10(4). doi: 10.1371/journal.pgen.1004283. PubMed PMID: WOS:000335499600035.
16. Roossinck MJ, Martin DP, Roumagnac P. Plant Virus Metagenomics: Advances in Virus Discovery. *Phytopathology*. 2015;105(6):716-27. doi: 10.1094/phyto-12-14-0356-rvw. PubMed PMID: WOS:000356955000001.
17. Turner TR, James EK, Poole PS. The plant microbiome. *Genome Biology*. 2013;14(6). doi: 10.1186/gb-2013-14-6-209. PubMed PMID: WOS:000328194200026.
18. Rolli E, Marasco R, Vigani G, Ettoumi B, Mapelli F, Deangelis ML, et al. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environmental Microbiology*. 2015;17(2):316-31. doi: 10.1111/1462-2920.12439. PubMed PMID: WOS:000350546200005.
19. Kim YC, Leveau JHJ, Gardener BBM, Pierson EA, Pierson LS, Ryu CM. The Multifactorial Basis for Plant Health Promotion by Plant-Associated Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77(5):1548-55. doi: 10.1128/aem.01867-10. PubMed PMID: WOS:000287700100002.
20. Murphy JF, Reddy MS, Ryu C-M, Kloepper JW, Li R. Rhizobacteria-Mediated Growth Promotion of Tomato Leads to Protection Against Cucumber mosaic virus. *Phytopathology*®. 2003;93(10):1301-7. doi: 10.1094/PHYTO.2003.93.10.1301.
21. Law JWF, Ser HL, Khan TM, Chuah LH, Pusparajah P, Chan KG, et al. The Potential of *Streptomyces* as Biocontrol Agents against the Rice Blast Fungus, *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*). *Frontiers in Microbiology*. 2017;8. doi: 10.3389/fmicb.2017.00003. PubMed PMID: WOS:000392018300001.
22. Gopal M, Gupta A, Thomas GV. Bespoke microbiome therapy to manage plant diseases. *Frontiers in Microbiology*. 2013;4. doi: 10.3389/fmicb.2013.00355. PubMed PMID: WOS:000331543300001.
23. Chialva M, Lanfranco L, Bonfante P. The plant microbiota: composition, functions, and engineering. *Current Opinion in Biotechnology*. 2021;(1879-0429 (Electronic)). doi: 10.1016/j.copbio.2021.07.003.

24. Singh BK, Trivedi P, Egidì E, Macdonald CA, Delgado-Baquerizo M. Crop microbiome and sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*. 2020;18(11):601-2. doi: 10.1038/s41579-020-00446-y.
25. Barrett LG, Kniskern JM, Bodenhausen N, Zhang W, Bergelson J. Continuum of specificity and virulence in plant host-pathogen interactions: causes and consequences. *New Phytologist*. 2009;183(3):513-29. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.02927.x. PubMed PMID: WOS:000268100800004.
26. Abdullah AS, Moffat CS, Lopez-Ruiz FJ, Gibberd MR, Hamblin J, Zerihun A. Host-Multi-Pathogen Warfare: Pathogen Interactions in Co-infected Plants. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8. doi: 10.3389/fpls.2017.01806. PubMed PMID: WOS:000413623800001.
27. Dutt A, Andrivon D, Le May C. Multi-infections, competitive interactions, and pathogen coexistence. *Plant Pathology*. 2022;71(1):5-22. doi: <https://doi.org/10.1111/ppa.13469>.
28. Syller J. Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology*. 2012;13(2):204-16. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00734.x. PubMed PMID: WOS:000298957100010.
29. Rochow WF, Ross AF. Virus multiplication in plants doubly infected by potato viruses X and Y. *Virology*. 1955;1(1):10-27. doi: 10.1016/0042-6822(55)90003-9. PubMed PMID: MEDLINE:13267974.
30. Venkatesh N, Koss MJ, Greco C, Nickles G, Wiemann P, Keller NP. Secreted Secondary Metabolites Reduce Bacterial Wilt Severity of Tomato in Bacterial–Fungal Co-Infections. *Microorganisms*. 2021;9(10). doi: 10.3390/microorganisms9102123.
31. Grube M, Fuernkranz M, Zitzenbacher S, Huss H, Berg G. Emerging multi-pathogen disease caused by *Didymella bryoniae* and pathogenic bacteria on Styrian oil pumpkin. *European Journal of Plant Pathology*. 2011;131(3):539-48. doi: 10.1007/s10658-011-9829-8. PubMed PMID: WOS:000297554800017.
32. Perefarrès F, Thebaud G, Lefeuvre P, Chiroleu F, Rimbaud L, Hoareau M, et al. Frequency-dependent assistance as a way out of competitive exclusion between two strains of an emerging virus. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2014;281(1781):9. doi: 10.1098/rspb.2013.3374. PubMed PMID: WOS:000332640400025.
33. Karyeija RF, Kreuze JF, Gibson RW, Valkonen JPT. Synergistic interactions of a Potyvirus and a phloem-limited crinivirus in Sweet potato plants. *Virology*. 2000;269(1):26-36. doi: 10.1006/viro.1999.0169. PubMed PMID: WOS:000086223600004.
34. Iheukwumere CC, Dashiell KE, Mutsaers HJW. Effects of single and combined infection of Soybean Mosaic Virus and *Meloidogyne incognita* on soybean and replication and pathogenicity of both pathogens. *Nematologia mediterranea*. 2008;36:25-30.
35. Pedersen AB, Fenton A. Emphasizing the ecology in parasite community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*. 2007;22(3):133-9. doi: DOI 10.1016/j.tree.2006.11.005. PubMed PMID: ISI:000244947400005.
36. Gonzalez-Jara P, Tenllado F, Martinez-Garcia B, Atencio FA, Barajas D, Vargas M, et al. Host-dependent differences during synergistic infection by Potyviruses with potato virus X. *Molecular Plant Pathology*. 2004;5(1):29-35. doi: 10.1046/j.1364-3703.2004.00202.x. PubMed PMID: WOS:000188959900003.
37. Shi XM, Miller H, Verchot J, Carrington JC, Vance VB. Mutations in the Region Encoding the Central Domain of Helper Component-Proteinase (HC-Pro) Eliminate Potato Virus X/Potyviral Synergism. *Virology*. 1997;231(1):35-42. doi: <https://doi.org/10.1006/viro.1997.8488>.
38. Le May C, Potage G, Andrivon D, Tivoli B, Outreman Y. Plant Disease Complex: Antagonism and Synergism Between Pathogens of the Ascochyta Blight Complex on Pea. *Journal of Phytopathology*. 2009;157(11-12):715-21. doi: 10.1111/j.1439-0434.2009.01546.x. PubMed PMID: WOS:000271493800009.
39. Seifi A, Nonomura T, Matsuda Y, Toyoda H, Bai Y. An Avirulent Tomato Powdery Mildew Isolate Induces Localized Acquired Resistance to a Virulent Isolate in a Spatiotemporal Manner. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2011;25(3):372-8. doi: 10.1094/mpmi-06-11-0171.

40. Shapiro LR, Salvaudon L, Mauck KE, Pulido H, De Moraes CM, Stephenson AG, et al. Disease Interactions in a Shared Host Plant: Effects of Pre-Existing Viral Infection on Cucurbit Plant Defense Responses and Resistance to Bacterial Wilt Disease. *Plos One*. 2013;8(10). doi: 10.1371/journal.pone.0077393. PubMed PMID: WOS:000325887300085.
41. O'Keeffe KR, Simha A, Mitchell CE. Indirect interactions among co-infecting parasites and a microbial mutualist impact disease progression. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2021;288(1956):20211313. doi: 10.1098/rspb.2021.1313.
42. Strauss AT, Bowerman L, Porath-Krause A, Seabloom EW, Borer ET. Mixed infection, risk projection, and misdirection: Interactions among pathogens alter links between host resources and disease. *Ecology and Evolution*. 2021;11(14):9599-609. doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.7781>.
43. Ahmadi N, Bouman B. Riz et rizicultures, enjeux économiques, écologiques et scientifiques. *Cahiers Agricultures*; 2013. p. 333-5.
44. Pandey S, Byerlee D, Dawe D. Rice in the global economy: strategic research and policy issues for food security. (IRRI) IRRI, editor. Los Banos (Philippines)2010.
45. Bandumula N. Rice Production in Asia: Key to Global Food Security. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 2018;88(4):1323-8. doi: 10.1007/s40011-017-0867-7.
46. Mendez del Villar P, Bauer J-M. Rice in West Africa: dynamics, policies and trends. *Cahiers Agriculture*. 2013;22(5):336-44.
47. Soullier G, Demont M, Arouna A, Lancon F, del Villar PM. The state of rice value chain upgrading in West Africa. *Global Food Security-Agriculture Policy Economics and Environment*. 2020;25. doi: 10.1016/j.gfs.2020.100365. PubMed PMID: WOS:000542156100009.
48. DGPER M. Résultats définitifs de la campagne agricole et de la situation alimentaire et nutritionnelle 2009/2010. In: *RURALE MDLADLHEDRH-DGDLPDLE*, editor. Burkina Faso2010.
49. MAHRH. Burkina Faso _ National Rice Development Strategy (NRDS). 2011.
50. Courtois B. Une brève histoire du riz et de son amélioration génétique. *Cirad France*2007. 13p.
51. Cubry P, Tranchant-Dubreuil C, Thuillet A-C, Monat C, Ndjiondjop M-N, Labadie K, et al. The Rise and Fall of African Rice Cultivation Revealed by Analysis of 246 New Genomes. *Current Biology*. 2018;28(14):2274-82.e6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.066>.
52. Linares OF. African rice (*Oryza glaberrima*): History and future potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(25):16360. doi: 10.1073/pnas.252604599.
53. Ndjiondjop MN, Semagn K, Sow M, Manneh B, Gouda AC, Kpeki SB, et al. Assessment of Genetic Variation and Population Structure of Diverse Rice Genotypes Adapted to Lowland and Upland Ecologies in Africa Using SNPs. *Frontiers in Plant Science*. 2018;9. doi: 10.3389/fpls.2018.00446. PubMed PMID: WOS:000429455100002.
54. Sarla N, Swamy BPM. *Oryza glaberrima*: A source for the improvement of *Oryza sativa*. *CURRENT SCIENCE*. 2005;89(6):955-63. PubMed PMID: WOS:000232536500019.
55. Semagn K, Ndjiondjop MN, Cissoko M. Microsatellites and agronomic traits for assessing genetic relationships among 18 New Rice for Africa (NERICA) varieties. *African Journal of Biotechnology*. 2006;05.
56. Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, Esker P, McRoberts N, Nelson A. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*. 2019;3(3):430-9. doi: 10.1038/s41559-018-0793-y.
57. Cartwright RD, Groth DE, Wamische YA, Greer CA, Calvert LA, Cruz CMV, et al. *Compendium of Rice Diseases and Pests, Second Edition: The American Phytopathological Society*; 2018.
58. Séré Y, Fargette D, Abo M, Wydra K, Bemereu M, Onasanya A, et al. Managing the major diseases of rice in Africa. In: Wopereis M, Johnson D, Ahmadi N, Tollens E, Jalloh A, editors. *Realizing Africa's Rice Promise: CABI*; 2013.
59. Kouassi NK, N'Guessan P, Albar L, Fauquet CM, Brugidou C. Distribution and characterization of Rice yellow mottle virus: A threat to African farmers. *Plant Disease*. 2005;89(2):124-33. doi: 10.1094/pd-89-0124. PubMed PMID: WOS:000226615300001.

60. Barnwal MK, Kotasthane A, Magculia N, Mukherjee PK, Savary S, Sharma AK, et al. A review on crop losses, epidemiology and disease management of rice brown spot to identify research priorities and knowledge gaps. *European Journal of Plant Pathology*. 2013;136(3):443-57. doi: 10.1007/s10658-013-0195-6. PubMed PMID: WOS:000319763600002.
61. Wonni I, Detemmerman L, Dao S, Ouedraogo L, Sarra S, Koita O, et al. Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* from West Africa. *Phytopathology*. 2011;101(6):S193.
62. Seppala O, Karvonen A, Valtonen ET, Jokela J. Interactions among co-infecting parasite species: a mechanism maintaining genetic variation in parasites? *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2009;276(1657):691-7. doi: DOI 10.1098/rspb.2008.1229. PubMed PMID: ISI:000262419000012.
63. Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 2006;57:19-53. doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105218. PubMed PMID: WOS:000239807700002.
64. Perez-Quintero AL, Rodriguez LM, Dereeper A, Lopez C, Koebnik R, Szurek B, et al. An Improved Method for TAL Effectors DNA-Binding Sites Prediction Reveals Functional Convergence in TAL Repertoires of *Xanthomonas oryzae* Strains. *Plos One*. 2013;8(7). doi: 10.1371/journal.pone.0068464. PubMed PMID: WOS:000323110600020.
65. Savary S, Willocquet L, Elazegui FA, Teng PS, Van Du P, Zhu D, et al. Rice Pest Constraints in Tropical Asia: Characterization of Injury Profiles in Relation to Production Situations. *Plant Disease*. 2000;84(3):341-56. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.3.341.
66. Savary S, Willocquet L, Elazegui FA, Castilla NP, Teng PS. Rice Pest Constraints in Tropical Asia: Quantification of Yield Losses Due to Rice Pests in a Range of Production Situations. *Plant Disease*. 2000;84(3):357-69. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.3.357.
67. Ou S. *Rice Diseases*. 2nd edition. Commonwealth Mycological: Instt Kew England; 1985.
68. Long DH, Lee FN, TeBeest DO. Effect of Nitrogen Fertilization on Disease Progress of Rice Blast on Susceptible and Resistant Cultivars. *Plant Disease*. 2000;84(4):403-9. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.4.403.
69. Reddy APK, Katyal JC, Rouse DI, MacKenzie DR. Relationship Between Nitrogen Fertilization, Bacterial Leaf Blight Severity, and Yield of Rice. *Phytopathology*. 1979;69:970-3.
70. Doni F, Suhaimi NSM, Mohamed Z, Ishak N, Mispan MS. *Pantoea*: a newly identified causative agent for leaf blight disease in rice. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2019;126(6):491-4. doi: 10.1007/s41348-019-00244-6.
71. Kini K, Agnimonhan R, Afolabi O, Milan B, Soglonou B, Gbogbo V, et al. First Report of a New Bacterial Leaf Blight of Rice Caused by *Pantoea ananatis* and *Pantoea stewartii* in Benin. *Plant Disease*. 2017;101(1):242-. doi: 10.1094/pdis-06-16-0940-pdn. PubMed PMID: WOS:000391160600033.
72. Kini K, Agnimonhan R, Dossa R, Soglonou B, Gbogbo V, Ouedraogo I, et al. First report of *Sphingomonas* sp. causing bacterial leaf blight of rice in Benin, Burkina Faso, The Gambia, Ivory Coast, Mali, Nigeria, Tanzania and Togo. *New Disease Reports*. 2017;35:32. doi: <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2017.035.032>.
73. Lee HB, Hong JP, Kim SB. First Report of Leaf Blight Caused by *Pantoea agglomerans* on Rice in Korea. *Plant Disease*. 2010;94(11):1372-. doi: 10.1094/PDIS-05-10-0374.
74. Ojanen SP, Nieminen M, Meyke E, Pöyry J, Hanski I. Long-term metapopulation study of the Glanville fritillary butterfly (*Melitaea cinxia*): survey methods, data management, and long-term population trends. *Ecology and Evolution*. 2013;3(11):3713-37. doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.733>.
75. Banerjee S, Walder F, Büchi L, Meyer M, Held AY, Gattinger A, et al. Agricultural intensification reduces microbial network complexity and the abundance of keystone taxa in roots. *The ISME Journal*. 2019;13(7):1722-36. doi: 10.1038/s41396-019-0383-2.
76. Liu Z, Guo Q, Feng Z, Liu Z, Li H, Sun Y, et al. Long-term organic fertilization improves the productivity of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch.) through increasing rhizosphere microbial diversity and network complexity. *Applied Soil Ecology*. 2020;147:103426. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103426>.

77. Edwards JA, Santos-Medellín CM, Liechty ZS, Nguyen B, Lurie E, Eason S, et al. Compositional shifts in root-associated bacterial and archaeal microbiota track the plant life cycle in field-grown rice. *PLOS Biology*. 2018;16(2):e2003862. doi: 10.1371/journal.pbio.2003862.
78. Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, Lurie E, Podishetty NK, Bhatnagar S, et al. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(8):E911-E20. doi: 10.1073/pnas.1414592112. PubMed PMID: WOS:000349911700014.
79. Guo J, Ling N, Li Y, Li K, Ning H, Shen Q, et al. Seed-borne, endospheric and rhizospheric core microbiota as predictors of plant functional traits across rice cultivars are dominated by deterministic processes. *New Phytologist*. 2021;230(5):2047-60. doi: <https://doi.org/10.1111/nph.17297>.
80. Chialva M, Ghignone S, Cozzi P, Lazzari B, Bonfante P, Abbruscato P, et al. Water management and phenology influence the root-associated rice field microbiota. *FEMS Microbiology Ecology*. 2020;96(9). doi: 10.1093/femsec/fiaa146.
81. Huang Q, Wang J, Wang C, Wang Q. The 19-years inorganic fertilization increased bacterial diversity and altered bacterial community composition and potential functions in a paddy soil. *Applied Soil Ecology*. 2019;144:60-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.07.009>.
82. Ullah S, He P, Ai C, Zhao S, Ding W, Song D, et al. How Do Soil Bacterial Diversity and Community Composition Respond under Recommended and Conventional Nitrogen Fertilization Regimes? *Microorganisms*. 2020;8(8):1193. doi: 10.3390/microorganisms8081193. PubMed PMID: 32764443.
83. Fletcher RJ, Burrell NS, Reichert BE, Vasudev D, Austin JD. Divergent Perspectives on Landscape Connectivity Reveal Consistent Effects from Genes to Communities. *Current Landscape Ecology Reports*. 2016;1(2):67-79. doi: 10.1007/s40823-016-0009-6.
84. Mony C, Vandenkoornhuysen P, Bohannan BJM, Peay K, Leibold MA. A Landscape of Opportunities for Microbial Ecology Research. *FRONTIERS IN MICROBIOLOGY*. 2020;11. doi: 10.3389/fmicb.2020.561427. PubMed PMID: WOS:000595422900001.
85. Lumini E, Vallino M, Alguacil MM, Romani M, Bianciotto V. Different farming and water regimes in Italian rice fields affect arbuscular mycorrhizal fungal soil communities. *Ecological Applications*. 2011;21(5):1696-707. doi: <https://doi.org/10.1890/10-1542.1>.
86. Zhou-Qi C, Bo Z, Guan-Lin X, Bin L, Shi-Wen H. Research Status and Prospect of *Burkholderia glumae*, the Pathogen Causing Bacterial Panicle Blight. *Rice Science*. 2016;23(3):111 - 8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2016.01.007>. PubMed PMID: ZHOUQI2016111.
87. Gao BD, Huang W, Xia H. A New Rice Disease, Black Sheath Spot, Caused by *Curvularia fallax* in China. *Plant Disease*. 2012;96(8):1224-. doi: 10.1094/PDIS-01-12-0021-PDN.
88. Majeed RA, Shahid AA, Ashfaq M, Saleem MZ, Haider MS. First Report of *Curvularia lunata* Causing Brown Leaf Spots of Rice in Punjab, Pakistan. *Plant Disease*. 2015;100(1):219-. doi: 10.1094/PDIS-05-15-0581-PDN.
89. Pinel-Galzi A, Traore O, Sere Y, Hebrard E, Fargette D. The biogeography of viral emergence: rice yellow mottle virus as a case study. *Current Opinion in Virology*. 2015;10:7-13. doi: 10.1016/j.coviro.2014.12.002. PubMed PMID: WOS:000351792900003.
90. Poulicard N, Pinel-Galzi A, Hebrard E, Fargette D. Why Rice yellow mottle virus, a rapidly evolving RNA plant virus, is not efficient at breaking rymv1-2 resistance. *Molecular Plant Pathology*. 2010;11(1):145-54. doi: 10.1111/j.1364-3703.2009.00582.X. PubMed PMID: WOS:000273317900013.
91. Poulin L, Grygiel P, Magne M, Gagnevin L, Rodriguez-R LM, Serna NF, et al. New Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis Tool for Surveillance and Local Epidemiology of Bacterial Leaf Blight and Bacterial Leaf Streak of Rice Caused by *Xanthomonas oryzae*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2015;81(2):688-98. doi: 10.1128/aem.02768-14. PubMed PMID: WOS:000347377500025.
92. Palanga E, Filloux D, Martin DP, Fernandez E, Gargani D, Ferdinand R, et al. Metagenomic-Based Screening and Molecular Characterization of Cowpea-Infecting Viruses in Burkina Faso. *PLOS ONE*. 2016;11(10):e0165188. doi: 10.1371/journal.pone.0165188.
93. Ibaba JD, Gubba A. High-Throughput Sequencing Application in the Diagnosis and Discovery of Plant-Infecting Viruses in Africa, A Decade Later. *Plants*. 2020;9(10). doi: 10.3390/plants9101376.

94. Márquez Luis M, Redman Regina S, Rodriguez Russell J, Roossinck Marilyn J. A Virus in a Fungus in a Plant: Three-Way Symbiosis Required for Thermal Tolerance. *Science*. 2007;315(5811):513-5. doi: 10.1126/science.1136237.
95. Kraberger S, Saumtally S, Pande D, Khoodoo MHR, Dhayan S, Dookun-Saumtally A, et al. Molecular diversity, geographic distribution and host range of monocot-infecting mastreviruses in Africa and surrounding islands. *Virus research*. 2017;238:171-8. doi: 10.1016/j.virusres.2017.07.001. PubMed PMID: 28687345.
96. Rybicki EP. A Top Ten list for economically important plant viruses. *Arch Virol*. 2015;160:17-20. doi: 10.1007/s00705-014-2295-9.
97. Konaté G, Traoré O. Les hôtes réservoirs du virus de la striure du maïs (MSV) en zone soudano-sahélienne : identification et distribution spatio-temporelle *Phytoprotection*. 1992;73(3):111-7. doi: 10.7202/706027ar.
98. Zhu Y, Chen H, Fan J, Wang Y, Li Y, Chen J, et al. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*. 2000;406(6797):718-22. doi: 10.1038/35021046.
99. Alonso P, Blondin L, Gladioux P, Mahé F, Sanguin H, Ferdinand R, et al. Heterogeneity of the rice microbial community of the Chinese centuries-old Honghe Hani rice terraces system. *Environmental Microbiology*. 2020;22(8):3429-45. doi: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15114>.
100. Alonso P, Gladioux P, Moubset O, Shih P-J, Mournet P, Frouin J, et al. Emergence of Southern Rice Black-Streaked Dwarf Virus in the Centuries-Old Chinese Yuanyang Agrosystem of Rice Landraces. *Viruses*. 2019;11(11):985. doi: 10.3390/v11110985. PubMed PMID: 31731529.
101. Zhang C, Dong Y, Tang L, Zheng Y, Makowski D, Yu Y, et al. Intercropping cereals with faba bean reduces plant disease incidence regardless of fertilizer input; a meta-analysis. *European Journal of Plant Pathology*. 2019;154(4):931-42. doi: 10.1007/s10658-019-01711-4.
102. Gibson AK, Nguyen AE. Does genetic diversity protect host populations from parasites? A meta-analysis across natural and agricultural systems. *Evolution Letters*. 2021;5(1):16-32. doi: <https://doi.org/10.1002/evl3.206>.
103. Lacroix C, Jolles A, Seabloom EW, Power AG, Mitchell CE, Borer ET. Non-random biodiversity loss underlies predictable increases in viral disease prevalence. *Journal of The Royal Society Interface*. 2014;11(92):20130947. doi: 10.1098/rsif.2013.0947.
104. Pagán I, González-Jara P, Moreno-Letelier A, Rodelo-Urrego M, Fraile A, Piñero D, et al. Effect of Biodiversity Changes in Disease Risk: Exploring Disease Emergence in a Plant-Virus System. *PLOS Pathogens*. 2012;8(7):e1002796. doi: 10.1371/journal.ppat.1002796.
105. Susi H, Laine A-L. Agricultural land use disrupts biodiversity mediation of virus infections in wild plant populations. *New Phytologist*. 2021;230(6):2447-58. doi: <https://doi.org/10.1111/nph.17156>.
106. He H-m, Liu L-n, Munir S, Bashir NH, Wang Y, Yang J, et al. Crop diversity and pest management in sustainable agriculture. *Journal of Integrative Agriculture*. 2019;18(9):1945-52. doi: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62689-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62689-4).
107. Shah HA, Huxley P, Elmes J, Murray KA. Agricultural land-uses consistently exacerbate infectious disease risks in Southeast Asia. *Nature Communications*. 2019;10(1):4299. doi: 10.1038/s41467-019-12333-z.
108. Chan K, Tusting LS, Bottomley C, Saito K, Djouaka R, Lines J. Malaria transmission and prevalence in rice-growing versus non-rice-growing villages in Africa: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Planetary Health*. 2022;6(3):e257-e69. doi: 10.1016/S2542-5196(21)00349-1.
109. Rigaud T, Perrot-Minnot MJ, Brown MJF. Parasite and host assemblages: embracing the reality will improve our knowledge of parasite transmission and virulence. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2010;277(1701):3693-702. doi: DOI 10.1098/rspb.2010.1163. PubMed PMID: ISI:000284054700001.
110. Seabloom EW, Borer ET, Groos K, Kendig AE, Lacroix C, Mitchell C, et al. The community ecology of pathogens: coinfection, coexistence and community composition. *Ecology Letters*; 2015.
111. Alison S, de Roode JC, Michalakis Y. Multiple infections and the evolution of virulence. *Ecology Letters*. 2013;16(4):556-67. doi: 10.1111/ele.12076. PubMed PMID: WOS:000316630200016.

112. Sofonea MT, Alizon S, Michalakakis Y. From within-host interactions to epidemiological competition: a general model for multiple infections. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2015;370(1675). doi: 10.1098/rstb.2014.0303. PubMed PMID: WOS:000358758700017.
113. Lysenko ES, Lijek RS, Brown SP, Weiser JN. Within-Host Competition Drives Selection for the Capsule Virulence Determinant of *Streptococcus pneumoniae*. *Current Biology*. 2010;20(13):1222-6. doi: 10.1016/j.cub.2010.05.051. PubMed PMID: WOS:000280024300033.
114. Bushman M, Antia R. A general framework for modelling the impact of co-infections on pathogen evolution. *Journal of The Royal Society Interface*. 2019;16(155):20190165. doi: 10.1098/rsif.2019.0165.
115. Barrett LG, Bell T, Dwyer G, Bergelson J. Cheating, trade-offs and the evolution of aggressiveness in a natural pathogen population. *Ecology Letters*. 2011;14(11):1149-57. doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01687.x. PubMed PMID: WOS:000296263200010.
116. Susi H, Barres B, Vale PF, Laine A-L. Co-infection alters population dynamics of infectious disease. *Nature Communications*. 2015;6:5975-. PubMed PMID: CCC:000348811700006.
117. Clay PA, Duffy MA, Rudolf VHW. Within-host priority effects and epidemic timing determine outbreak severity in co-infected populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2020;287(1922):20200046. doi: 10.1098/rspb.2020.0046.
118. Ashby B, Iritani R, Best A, White A, Boots M. Understanding the role of eco-evolutionary feedbacks in host-parasite coevolution. *Journal of Theoretical Biology*. 2019;464:115-25. doi: 10.1016/j.jtbi.2018.12.031.
119. Susi H, Sallinen S, Laine A-L. Coinfection with a virus constrains within-host infection load but increases transmission potential of a highly virulent fungal plant pathogen. *Ecology and Evolution*. 2022;12(3):e8673. doi: <https://doi.org/10.1002/ece3.8673>.
120. Filloux D, Fernandez E, Loire E, Claude L, Galzi S, Candresse T, et al. Nanopore-based detection and characterization of yam viruses. *Scientific Reports*. 2018;8(1):17879. doi: 10.1038/s41598-018-36042-7.
121. Lieferting LW, Waite DW, Thompson JR. Application of Oxford Nanopore Technology to Plant Virus Detection. *Viruses*. 2021;13(8). doi: 10.3390/v13081424.
122. Riaz N, Leung P, Barton K, Smith MA, Carswell S, Bull R, et al. Adaptation of Oxford Nanopore technology for hepatitis C whole genome sequencing and identification of within-host viral variants. *BMC Genomics*. 2021;22(1):148. doi: 10.1186/s12864-021-07460-1.
123. Liu Y, Kearney J, Mahmoud M, Kille B, Sedlazeck FJ, Treangen TJ. Rescuing Low Frequency Variants within Intra-Host Viral Populations directly from Oxford Nanopore sequencing data. *bioRxiv : the preprint server for biology*. 2021:2021.09.03.458038. doi: 10.1101/2021.09.03.458038. PubMed PMID: 34518837.
124. Boykin LM, Sseruwagi P, Alicai T, Ateka E, Mohammed IU, Stanton J-AL, et al. Tree Lab: Portable Genomics for Early Detection of Plant Viruses and Pests in Sub-Saharan Africa. *Genes*. 2019;10(9). doi: 10.3390/genes10090632.
125. Pomerantz A, Peñafiel N, Arteaga A, Bustamante L, Pichardo F, Coloma LA, et al. Real-time DNA barcoding in a rainforest using nanopore sequencing: opportunities for rapid biodiversity assessments and local capacity building. *GigaScience*. 2018;7(4):giy033. doi: 10.1093/gigascience/giy033.
126. Hebrard E, Pinel-Galzi A, Oludare A, Poulicard N, Aribi N, Fabre S, et al. Identification of a hypervirulent pathotype of Rice yellow mottle virus: a threat to genetic resistance deployment in West-Central Africa. *Phytopathology*. 2018;(108):1-9.
127. Pidon H, Ghesquière A, Chéron S, Issaka S, Hébrard E, Sabot F, et al. Fine mapping of *RYMV3*: a new resistance gene to *Rice yellow mottle virus* from *Oryza glaberrima*. *Theoretical and Applied Genetics*; 2017. p. 807.
128. Sereme D, Lacombe S, Konate M, Bangratz M, Pinel-Galzi A, Fargette D, et al. Sites under positive selection modulate the RNA silencing suppressor activity of rice yellow mottle virus movement protein P1. *Journal of General Virology*. 2014;95:213-8. doi: 10.1099/vir.0.057026-0. PubMed PMID: WOS:000338177300023.

129. Tran TT, Pérez-Quintero AL, Wonni I, Carpenter SCD, Yu Y, Wang L, et al. Functional analysis of African *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* TALomes reveals a new susceptibility gene in bacterial leaf blight of rice. *PLOS Pathogens*. 2018;14(6):e1007092. doi: 10.1371/journal.ppat.1007092.
130. Eck JL, Barrès B, Soubeyrand S, Sirén J, Numminen E, Laine A-L. Strain Diversity and Spatial Distribution Are Linked to Epidemic Dynamics in Host Populations. *The American Naturalist*. 2021;199(1):59-74. doi: 10.1086/717179.
131. Teixeira L, Ferreira Á, Ashburner M. The Bacterial Symbiont *Wolbachia* Induces Resistance to RNA Viral Infections in *Drosophila melanogaster*. *PLOS Biology*. 2008;6(12):e1000002. doi: 10.1371/journal.pbio.1000002.
132. Deng MY, Cliver DO. Antiviral effects of bacteria isolated from manure. *Microbial Ecology*. 1995;30(1):43-54. doi: 10.1007/BF00184512.
133. Tilman D, Balzer C, Hill J, Befort BL. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011;108(50):20260-4. doi: 10.1073/pnas.1116437108. PubMed PMID: WOS:000298034800082.
134. Webb P, Benton TG, Beddington J, Flynn D, Kelly NM, Thomas SM. The urgency of food system transformation is now irrefutable. *Nature Food*. 2020;1(10):584-5. doi: 10.1038/s43016-020-00161-0.
135. van Ittersum MK, van Bussel LGJ, Wolf J, Grassini P, van Wart J, Guilpart N, et al. Can sub-Saharan Africa feed itself? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2016;113(52):14964-9. doi: 10.1073/pnas.1610359113. PubMed PMID: WOS:000391090800035.
136. Carvajal-Yepes M, Cardwell K, Nelson A, Garrett KA, Giovani B, Saunders DGO, et al. A global surveillance system for crop diseases. *Science*. 2019;364(6447):1237. doi: 10.1126/science.aaw1572.
137. Lannou C, Roby D, Ravigné V, Hannachi M, Moury B. L'immunité des plantes : pour des cultures résistantes aux maladies. Quæ É, editor. Versailles2021. 392 p.
138. Makiola A, Compson ZG, Baird DJ, Barnes MA, Boerlijst SP, Bouchez A, et al. Key Questions for Next-Generation Biomonitoring. *Frontiers in Environmental Science*. 2020;7(197). doi: 10.3389/fenvs.2019.00197.
139. McDonald BA, Linde C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*. 2002;40:349-+. doi: DOI 10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443. PubMed PMID: ISI:000178665700013.
140. Pinel-Galzi A, Dubreuil-Tranchant C, Hebrard E, Mariac C, Ghesquiere A, Albar L. Mutations in Rice yellow mottle virus Polyprotein P2a Involved in RYMV2 Gene Resistance Breakdown. *Frontiers in Plant Science*. 2016;7. doi: 10.3389/fpls.2016.01779. PubMed PMID: WOS:000388768700001.
141. Bartoli C, Frachon L, Barret M, Rigal M, Huard-Chauveau C, Mayjonade B, et al. In situ relationships between microbiota and potential pathobiota in *Arabidopsis thaliana*. *The ISME journal*. 2018;12(8):2024-38. Epub 2018/05/30. doi: 10.1038/s41396-018-0152-7. PubMed PMID: 29849170.
142. Jakuschkin B, Fievet V, Schwaller L, Fort T, Robin C, Vacher C. Deciphering the pathobiome: intra- and interkingdom interactions involving the pathogen *Erysiphe alphitoides*. *Microbial Ecology*. 2016. doi: DOI:10.1007/s00248-016-0777-x.
143. Savary S, Willocquet L. Modeling the Impact of Crop Diseases on Global Food Security. *Annual Review of Phytopathology*. 2020;58(1):313-41. doi: 10.1146/annurev-phyto-010820-012856.
144. Ristaino JB, Anderson PK, Bebbler DP, Brauman KA, Cunniffe NJ, Fedoroff NV, et al. The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2021;118(23):e2022239118. doi: 10.1073/pnas.2022239118. PubMed PMID: 34021073.

Annexes : tirés à part des principaux travaux