

1.2 L'amélioration de la production agricole et de l'alimentation

Améliorer le riz pour l'Afrique: résistance au virus de la panachure jaune du riz et potentiel d'amélioration génétique de la variété *O. glaberrima*

Alain Ghesquière,¹ Nour Ahmadi,² Laurence Albar,³ Denis Fargette,⁴ Monty Jones,⁵ Mathias Lorieux,⁶ Marie-Noel Ndjondjop,⁷ et F. Sohro⁸

Le virus de la panachure jaune, qui attaque le riz, est apparu au Kenya pendant les années 60. A la faveur de l'intensification et de l'irrigation des cultures, la maladie a gagné l'Afrique centrale et occidentale. Les premières tentatives de croisement ne sont pas parvenues à créer des cultivars intégrant la résistance des variétés japonica de riz de plateau et des caractéristiques agronomiques adaptées aux conditions naturelles des riz de bas-fonds. Les recherches ont permis de cloner un gène de résistance à la panachure jaune, qui a été introduit dans plusieurs variétés indica et mis à la disposition des instituts africains de recherche.

En 1990, l'Association pour le développement de la riziculture en Afrique de l'Ouest (ADRAO) — maintenant dénommée Centre du riz pour l'Afrique — a été établie à M'bé, en Côte d'Ivoire, sous l'égide du Groupe consultatif pour la recherche agricole internationale (CGIAR), ce qui a ouvert la voie à de nouvelles recherches coopératives et conjointes avec l'Institut de recherche pour le développement (IRD) et le Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD).

L'IRD a axé sa collaboration avec l'ADRAO sur deux objectifs essentiels: développer la résistance au virus de la panachure jaune du riz (RYMV) et procéder à la caractérisation génétique de la variété de riz africaine cultivée *O. glaberrima*. Le virus de la panachure jaune du riz s'est rapidement répandu en Afrique au début des années 90, occasionnant des pertes de rendement considérables. Pour lutter contre ce fléau, priorité a été donnée à l'identification de la base génétique de résistance au virus. L'évaluation de la diversité génétique de l'espèce de riz africaine cultivée *O. glaberrima* a semblé offrir un moyen prometteur de stabiliser et d'accroître la productivité du riz sur le continent.

Ces deux opérations ont été conduites par l'IRD, en collaboration permanente avec l'ADRAO, pendant plus de dix ans. Elles ont par ailleurs joué un rôle central dans le renforcement des capacités et dans la formation des doctorants des systèmes nationaux de recherche agricole (SNRA), notamment le Centre national de recherche agronomique (CNRA) de Côte d'Ivoire. Les travaux sur le RYMV se sont également effectués en étroite coopération avec l'Institut de l'environnement et de recherches agricoles (INERA) du Burkina Faso, et les instituts nationaux de plusieurs pays est-africains et de Madagascar. Ces collaborations de longue durée entre l'IRD, l'ADRAO et les institutions nationales ont été très fructueuses et ont donné lieu à de nombreuses communications scientifiques communes.

Outre la contribution du ministère français des Affaires étrangères, ces projets reçoivent un appui financier de différentes sources. Les travaux conjoints de recherche sur l'hybridation interspécifique entre les espèces de riz africaines et asiatiques ont été subventionnés par le ministère japonais des Affaires étrangères et l'Unité spéciale de coopération technique entre pays en développement du Programme des Nations Unies pour le développement (CTPD/PNUD), et un projet spécial portant sur le RYMV a été financé par le programme de biotechnologie AGROPOLIS de Montpellier. La Banque africaine de développement, la fondation Rockefeller et le Département soutien et formation de l'IRD ont également accordé des bourses d'études aux doctorants. Plus récemment, les travaux sur le riz africain conduits en collaboration avec l'ADRAO se sont poursuivis dans le cadre du Programme pour relever les défis « Génération »; le Centre international d'agriculture tropicale (CIAT) y a également participé.

Caractérisation du virus et pathogénicité

Le RYMV sévit uniquement en Afrique. Il a été signalé pour la première fois au Kenya en 1966, et en Afrique de l'ouest en 1976. Il s'agit d'une maladie émergente type, apparue avec la transformation des pratiques agricoles, l'intensification des cultures et l'introduction de variétés asiatiques à haut rendement cultivées par irrigation. Comme la biologie de ce virus était peu connue, le programme mis sur pied par la France et l'ADRAO s'est attaché à déterminer la variabilité sérologique et moléculaire d'isolats recueillis dans divers pays africains. L'utilisation d'antisérums polyclonaux et monoclonaux a permis de distinguer plusieurs souches du virus. Deux sérogroupes distincts ont été identifiés en Côte d'Ivoire: le S1 dans les régions boisées, et le S2 dans les zones de savane (N'Guessan *et al.* 2000). Trois autres ont été recensés en Afrique de l'est et à Madagascar. Il ressort de ces études que le virus est né en Afrique de l'est et s'est ensuite diffusé à l'ouest et au centre du continent, entraînant une perte subséquente de la diversité génétique (Abubakar *et al.* 2003). Les études de la pathogénicité conduites sur un ensemble de lignées et de variétés de référence à l'ADRAO ont fait apparaître d'importantes différences d'agressivité entre les isolats, mais pas de corrélation stricte avec la classification moléculaire des souches RYMV. Quelques interactions spécifiques entre isolats et variétés ont été observées, et des variétés étroitement apparentées ont présenté des réactions très différentes à l'inoculation, ce qui confirme la complexité de la pathogénicité du RYMV (N'Guessan *et al.* 2001).

Base génétique de la résistance au RYMV

La mise au point de variétés résistantes a semblé constituer le moyen le plus prometteur de maîtriser le RYMV. La sélection effectuée à l'ADRAO et à l'Institut international d'agriculture tropicale (IITA) en vue d'identifier d'éventuels donneurs de résistance a montré que toutes les accessions de riz indica étaient sensibles ou très sensibles, alors que quelques accessions du riz de plateau de la sous-espèce japonica ont montré une résistance partielle, mais efficace, indépendamment de l'origine des variétés.

Les travaux visant à transférer la résistance dans le patrimoine génétique de la variété indica n'ont pas produit des lignées alliant la résistance au RYMV et la faculté d'adaptation aux conditions de culture des bas-fonds ou irriguées sensibles à l'expansion du virus. Des études ultérieures se sont fondées sur la cartographie génétique pour identifier des locus à effets quantitatifs (QTL) et des marqueurs génétiques de résistance. Nous avons fait appel à la population de lignées haploïdes doublées IR64 x Azucena pour établir la cartographie des principaux QTL de résistance au RYMV. Notre méthode a conjugué une évaluation du contenu viral par test ELISA, la notation des symptômes et l'évaluation des effets de l'inoculation sur la morphologie et le développement des plantes.

On a constaté que la résistance au RYMV était sous contrôle polygénique accompagné d'interactions complexes entre les QTL, le patrimoine génétique et la morphologie de la plante (Albar *et al.* 1998). Quinze QTL ont été découverts sur sept segments chromosomiques. Tous les allèles favorables, sauf un, ont été apportés par le parent résistant, « Azucena ». Des corrélations phénotypiques entre la résistance et l'architecture et le développement des plantes ont été observées, qui confirment les constatations des sélectionneurs. Trois QTL de résistance ont été validés sur le terrain à l'ADRAO et dans des conditions contrôlées à Montpellier.

Une attention particulière a été portée aux QTL de résistance qui se sont avérés indépendants de la morphologie de la plante et ont été observés dans différents patrimoines génétiques. On a utilisé une lignée quasi isogénique (NIL) résistante d'IR64 pour valider un QTL majoritaire détecté sur le chromosome 12 et pour préciser son emplacement (Ahmadi *et al.* 2001). On a constaté que ce QTL retardait l'invasion cellulaire de la plante au travers de l'interface gaine vasculaire-phloème (Ioannidou *et al.* 2003). Il a été cartographié sur un segment de 1,5 Mb de la région centromérique du chromosome 12. Les travaux en cours portent sur un gène qui présente une similarité avec le domaine intermédiaire de la famille de facteurs eucaryotiques d'initiation de la traduction eIF(iso)4G, et qui offre les plus grandes chances d'être le gène sous-jacent de ce QTL (Boisnard *et al.* 2004).

Clonage d'un gène majeur de résistance au RYMV

La caractérisation et l'identification d'un gène conférant une forte résistance au RYMV ont été l'aboutissement majeur de la collaboration avec l'ADRAO. Cette résistance présente un intérêt particulier pour l'amélioration génétique du riz puisqu'elle confère à la plante une immunité de longue durée après l'inoculation mécanique. Si cette résistance avait déjà été décrite dans plusieurs accessions d'*Oryza glaberrima*, l'ADRAO a identifié une accession d'*O. sativa* (cultivar Giganté) qui affiche une résistance analogue à un large éventail d'isolats du virus. On a découvert qu'un gène récessif

unique était responsable de cette résistance et se produisait au même locus (appelé résistance au virus de la panachure jaune-1 [Rymv-1]) dans le cultivar Giganté et dans l'accession Tog5681 de l'*O. glaberrima*, (Ndjiondjop et al. 1999). Le locus a été cartographié sur le chromosome 4 dans un intervalle de 3,7 cM (Albar et al. 2003). On a récemment démontré que ce locus de résistance code les facteurs eIF(iso)4G, et que des mutations dans le domaine conservé de la protéine produisent des allèles de résistance différentes dans le cultivar Giganté et dans les variétés résistantes Tog5681 et Tog5672 d'*O. glaberrima* (Albar et al. 2006). Ces observations cadrent donc bien avec l'apparition d'isolats naturels ou de variants sélectionnés artificiellement après des inoculations en série de différentes souches du virus capables de contourner un ou plusieurs gènes de résistance (Fargette et al. 2002).



Le gène de résistance a été transféré à plusieurs variétés d'indica sensibles (BG90-2, Bouaké189, Jaya) pour confirmer son efficacité à conférer une résistance. Ces lignées ont été mises à la disposition de l'ADRAO et des SNRA intéressés. Le développement d'isolignées résistantes dans différents patrimoines génétiques a par ailleurs permis de tester la durabilité de la résistance (Sohro et al. 2005). Une mutation capable de contourner le mécanisme de résistance a été décelée dans un isolat virulent du RYMV sélectionné après des passages en série. Elle se trouvait dans le gène qui code la protéine virale liée au génome (VPg) et son introduction dans un clone infectieux mais avirulent a suffi à conférer la faculté de contourner la résistance (Hébrard et al. 2006).

Une première carte génétique de la variété *O. glaberrima*

Le constat que l'espèce *O. glaberrima* avait été domestiquée indépendamment de l'espèce *O. sativa* a suscité un vif intérêt pour l'introgession et l'hybridation interspécifique entre les deux espèces en vue d'introduire de nouveaux gènes et d'élargir leur capacité d'adaptation à d'autres conditions de culture. Cela dit, l'*O. glaberrima* est séparée de l'*O. sativa* par des barrières reproductives considérables, notamment la stérilité du pollen et la stérilité femelle des plantes issues de croisements. L'ADRAO a mis au point des techniques de sélection par rétrocroisement et des cultures d'anthères pour contourner ces barrières et a réussi à obtenir des lignées introgressées qui produisent de bonnes variétés et une meilleure compétitivité contre les adventices. On ne disposait cependant d'aucune étude de liaison génétique entre les deux espèces de riz cultivées et ce déficit d'information a limité l'utilisation potentielle de la diversité génétique de l'*O. glaberrima*.

En 2000, une carte génétique moléculaire qui a été établie à partir d'une descendance issue de rétrocroisements (*O. sativa* x *O. glaberrima*) x *O. sativa* (Lorieux et al. 2000) a été publiée. L'IR64 a servi de parent récurrent à l'*O. sativa*, tandis que l'accession résistante au RYMV Tog5681 était celui de l'*O. glaberrima*. La carte a été basée sur des marqueurs PCR (Polymerase chain reaction), essentiellement des microsatellites et des marqueurs de séquence unique. Plusieurs caractères ont été mesurés sur les plantes issues du premier backcross (BC1), et les principaux gènes et QTL de ces caractères ont été cartographiés. Plusieurs des gènes correspondaient à des locus précédemment identifiés. La longueur totale de la carte est comparable à celle observée pour les croisements *indica-japonica*, ce qui indique qu'il n'y a pas eu de barrière à la recombinaison entre les deux espèces. Trois chromosomes ont cependant affiché des divergences avec les cartes des croisements *indica-japonica*. Une très bonne colinéarité avec les cartes intraspécifiques a été observée, qui confirme les observations cytologiques antérieures. Un point chaud ségrégation-distorsion important a été observé sur le chromosome 6 près du gène *waxy*; il signale la présence de *s10*, un gène de stérilité sporo-gamétophyte précédemment identifié. Cette opération a constitué la première étape à la localisation des QTL présentant un intérêt et à l'établissement des fondements d'une sélection assistée par marqueurs de l'*O. glaberrima*. Elle était une condition indispensable à l'identification des locus de stérilité par la sélection de nombreuses descendance pour améliorer la fertilité et pour contrôler la création d'un matériel génétique introgressé afin de mieux représenter le génome *O. glaberrima* sous forme pratique.

Conclusion et orientation future des travaux en collaboration

Les futures collaborations avec les centres CGIAR en matière de génétique et de génomique du riz sont désormais envisagées dans une optique post-génomique. L'existence de la séquence génomique complète de deux accessions de riz représentatives de deux sous-espèces (Nipponbare [japonica] et 93-11 [indica]) ainsi que de nombreux autres instruments (cartes génétiques, collection de mutants, etc.) devrait accélérer la découverte des gènes et faciliter l'analyse fonctionnelle des gènes d'intérêt agronomique. Avec l'un des plus petits génomes (370–380 Mb) du genre *Oryza*, l'espèce cultivée africaine *O. glaberrima*, de même que son ancêtre sauvage *O. barthii* (syn. *O. breviligulata*), sera plus

facile à analyser que les espèces asiatiques *O. sativa* pour déterminer sa diversité génétique, examiner l'effet de goulot d'étranglement de sa domestication et modéliser le génome du riz cultivé. À cette fin, différentes banques de chromosomes bactériens artificiels (BAC) d'importantes accessions d'*O. glaberrima* ont récemment été établies, notamment les variétés CG14 (parente des variétés NERICA développées par l'ADRAO), Tog5681 et IRGC103544 (deux variétés utilisées pour la construction de lignées de substitution chromosomiques dans le cadre d'un projet appuyé par le Programme pour relever les défis « Génération »). Cette aptitude croissante à séquencer le génome nous donne de nouvelles possibilités d'étudier en profondeur des segments chromosomiques particuliers et d'accélérer le clonage positionnel des gènes/allèles originaux de l'*O. glaberrima*. De nombreuses autres applications dans les domaines de la sélection assistée par marqueurs et de l'amélioration des plantes en vue d'élargir la diversité génétique existante et d'élaborer des méthodes de sélection appropriées sont également envisagées dans le cadre des futurs travaux coopératifs avec les centres CGIAR.

¹ Alain Ghesquière, titulaire d'un doctorat, est directeur de l'Unité mixte de recherche (UMR) 5096 « Génome et développement des plantes » regroupant l'IRD, le Centre national de la recherche scientifique (CNRS) et l'Université de Perpignan à l'IRD-Montpellier. Il est par ailleurs responsable de la multiplication et de la caractérisation de la collection de mutants d'insertion tDNA en collaboration avec le CIAT (Cali, Colombie)

² Nour Ahmadi, titulaire d'un doctorat, généticien, possède une vaste expérience de l'amélioration du riz pour les écosystèmes pluviaux. Il dirige actuellement l'Unité de recherche « Amélioration du riz et gestion des cultures » du CIRAD et supervise plusieurs projets de recherche menés conjointement par le CIRAD et les Centres du CGIAR.

³ Laurence Albar, titulaire d'un doctorat, travaille à l'UMR 5096 « Génome et développement des plantes » sur l'identification des gènes de résistance à la panachure jaune du riz (RYMV). Elle a cloné le gène eIF(Iso)4G responsable de la forte résistance au RYMV.

⁴ Denis Fargette, titulaire d'un doctorat, virologue, est responsable du programme d'interaction RYMV-riz à l'IRD, UMR 1097 « Diversité et génomes des plantes cultivées ».

⁵ Monty Jones a été responsable du programme d'amélioration du riz pluvial à l'ADRAO (Bouaké, Côte d'Ivoire) pendant plus de dix ans. Titulaire d'un doctorat, il a notamment mis au point l'hybridation interspécifique du riz pour créer les variétés NERICA. Il est actuellement Secrétaire exécutif du Forum pour la recherche agricole en Afrique (FARA).

⁶ Mathias Lorieux, titulaire d'un doctorat, généticien à l'IRD, a été détaché au CIAT (Cali, Colombie) pour assurer la multiplication des collections de mutants d'insertion tDNA du programme Génoplante. Il dirige le Programme pour relever les défis « Génération » sur la construction de lignées introgressées interspécifiques à partir de différentes espèces de riz.

⁷ Marie-Noël Ndjondjop a préparé son doctorat à l'IRD-Montpellier (1996-1999) grâce à une bourse de la Fondation Rockefeller (1996-1999). Elle a ensuite poursuivi ses études post-doctorales à l'ADRAO (Bouaké, Côte d'Ivoire) et à l'Université Cornell (États-Unis d'Amérique). Elle est maintenant responsable du programme de biotechnologie du riz au Centre du riz pour l'Afrique (Cotonou, Bénin).

⁸ F. Sorho prépare actuellement son doctorat avec l'appui du Département soutien et formation de l'IRD et de l'ADRAO. Il soutiendra sa thèse sur la philogéographie du RYMV et la durabilité de la résistance naturelle en septembre 2006 à l'Université d'Abidjan.

Articles conjoints sur les collaborations avec l'ADRAO et les systèmes nationaux de recherche agricole africains

Abubakar Z., Ali F., Pinel A., Traore O., N'Guessan P., Nottoghem J.-L., Kimmings F., Konaté G. and Fargette D. (2003) Phylogeography of Rice yellow mottle virus in Africa. *J. Gen. Virology* 84: 733–744.

Ahmadi N., Albar L., Pressoir G., Fargette D. and Ghesquière A. (2001) Genetic basis and mapping of the resistance to Rice yellow mottle virus. III. Analysis of QTLs efficiency in an experimental process of marker assisted introgression *Theor. Appl. Genet.* 103: 1084–1092.

Albar L., Bangratz-Reyser M., Hébrard E., Ndjondjop M.-N., Jones M. and Ghesquière A. (2006) Mutations in the eIF(iso)4G translation initiation factor confer resistance of rice to Rice yellow mottle virus. *Plant J.* (sous presse).

Albar L., Ndjondjop M.-N., Esshak Z., Berger A., Pinel A., Fargette A. and Ghesquière A. (2003) Fine mapping of a gene required for RYMV cell-to cell movement. *Theor. Appl. Genet* 107: 371–378.

Albar L., Lorieux M., Ahmadi N., Rimbault I., Pinel A., Sy A.A., Fargette D. and Ghesquière A. (1998) Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. I: QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor. Appl. Genet.* 97:1145–1154.

Boisnard A., Albar L., Ghesquière A (2004) Eukaryotic translation initiation factors as candidates genes for RYMV resistance in rice. Poster presented to the "Plant Genomics European Meetings", 22-25/9/04, Lyon, France

Fargette D., Pinel A., Traoré O., Ghesquière A. and Konaté G. (2002) Emergence of resistance isolates of Rice Yellow mottle virus during serial inoculations. *Eur. J. Plant Path.* 108:585–591.

Hébrard E., Pinel-Galzi A., Bersoult A. Siré C. and D. Fargette (2006) Emergence of a resistance-breaking isolate of Rice yellow mottle virus during serial inoculations is due to single substitution in the genome-linked viral protein VPg. *J. Gen. Virol* 87: 1369-1373.

Ioannidou D., Pinel A., Brugidou C., Albar L., Ahmadi N., Ghesquière A., Nicole M. and Fargette D. (2003) Characterisation of the effects of a major QTL of the partial resistance to Rice yellow mottle virus using a near-isogenic-line approach. *Physiol. Mol. Plant Path.* 63:213-221.

Lorieux M., Ndjiondop M.-N. and Ghesquière A. (2000) Genetic studies on *Oryza sativa* x *O. glaberrima* hybridization: A micro-satellite-based genetic linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 100:593-601.

Ndjiondjop M.-N., Albar L., Brugidou C., Fargette D., Fauquet C. and Ghesquière A. (1999) Characterization and genetic basis of the high resistance level to Rice yellow mottle virus (RYMV) found in some *O. sativa* and *O. glaberrima* accessions. *Plant Dis.* 83:931-935.

N'Guessan P., Pinel A., Caruana M.-L., Frutos R., Sy A., Ghesquière A. and Fargette D. (2000) Evidence of the presence of two serotypes of Rice yellow mottle virus in Côte d'Ivoire. *Eur. J. Plant Path.* 106:167-178.

N'Guessan P., Pinel A., Sy A., Ghesquière A. and Fargette D. (2001) Distribution, pathogenicity and interactions of two strains of Rice yellow mottle virus in forested and savannah zones of West Africa. *Plant Dis.* 85:59-64.

Sorho F., Pinel A., Traoré O., Bersoult A., Ghesquière A., Hébrard E., Konaté G., Séré Y. and Fargette D. (2005) Effectiveness and durability of three types of resistance to rice to Rice Yellow mottle virus. *Eur. J. Plant Path.* 112:349-359.

1.2 Producing more and better food

Improving rice for Africa: Resistance to rice yellow mottle virus and the breeding potential of *O. glaberrima*

Alain Ghesquière,¹ Nour Ahmadi,² Laurence Albar,³ Denis Fargette,⁴ Monty Jones,⁵ Mathias Lorieux,⁶ Marie-Noel Ndjiondjop,⁷ F. Sorho⁸

Rice yellow mottle virus first emerged in Kenya in the 1960s and later spread to Central and West Africa along with rice intensification and irrigation. Initial attempts failed to combine in cultivars the resistance of japonica upland varieties and agronomic traits adapted to the lowlands at risk. A resistance gene was subsequently cloned and introduced to several indica varieties and made available to research institutes in Africa.

In 1990, the West Africa Rice Development Association (WARDA) — now the Africa Rice Center — was established at M'bé, Côte d'Ivoire, under the auspices of the Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR). This provided new opportunities of collaboration and joint research with the Institut de recherche pour le développement (IRD) and the Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD).

IRD focused collaboration with WARDA on two main objectives: developing resistance to rice yellow mottle virus (RYMV) and the genetic characterization of the African cultivated rice species, *Oryza glaberrima*. RYMV had spread rapidly across Africa in the early 1990s, causing large yield losses. Priority was given to unraveling the genetic bases of resistance to RYMV to combat this problem. Assessing the genetic diversity of *O. glaberrima* was seen as a promising way to stabilize and increase rice productivity on the continent.

Both activities were jointly carried out by IRD and WARDA in a collaboration uninterrupted for more than 10 years. They served also as an important focus for capacity building and training PhD students from national agricultural research systems (NARS), involving in particular the Centre national de recherche agronomique in Côte d'Ivoire. RYMV research also included considerable collaboration with the Institut de l'environnement et de recherches agricoles in Burkina Faso and national institutes in several East African countries and Madagascar. These fruitful, long-lasting collaborations combining IRD, WARDA and national institutions have given rise to many joint scientific papers.

These projects receive financial support from a variety of sources aside from the contribution of the French Ministry of Foreign Affairs. Joint research on interspecific hybridization between African and Asian rice species was supported by the Ministry of Foreign Affairs of Japan and United Nations Development Programme Special Unit for Technical Cooperation among Developing Countries. A special project on RYMV was funded by the Montpellier Agropolis Biotechnology Platform. The African Development Bank, Rockefeller Foundation, and IRD Training and Support Department provided scholarship grants to PhD students. More recently, collaboration on African rice with WARDA has been pursued within the framework of the Generation Challenge Program and involves the International Center for Tropical Agriculture (CIAT by its Spanish acronym) in Colombia.

Characterization of the virus and pathogenicity

RYMV exists only in Africa. First reported in Kenya in 1966 and present in West Africa since 1976, it is a typical emergent disease, arising with changes in agricultural practices: intensification and the introduction of high-yielding varieties from Asia grown under irrigation. As little was known about the biology of the virus, the France-WARDA program set out to determine the serological and molecular diversity of RYMV isolates collected in various African countries. Using polyclonal and monoclonal antiserum, several strains of the virus have been distinguished. Two different serogroups were identified in Côte d'Ivoire: S1 is found in forested areas and S2 in savannah areas (N'Guessan et al. 2000). A further three serogroups were identified in East Africa and Madagascar. These studies suggested that the virus arose in East Africa and later spread to West and Central Africa, where it has less genetic diversity (Abubakar et al. 2003). Pathogenicity studies on a set of reference lines and varieties at WARDA showed strong differences in aggressiveness among

isolates but no strict correlation with the molecular classification of the strains. Some specific isolate-variety interactions were observed, and strong differences in plant response after inoculation could be found between closely related varieties, confirming the complexity of RYMV pathogenicity (N'Guessan et al. 2001).

Genetic basis of RYMV resistance

Developing resistant varieties was considered the most promising way to control RYMV. Screening at WARDA and the International Institute of Tropical Agriculture (IITA) in Nigeria to identify potential donors of resistance showed that, regardless of the origin of the varieties, all indica accessions were susceptible or very susceptible, while some upland japonica rice accessions showed partial but effective resistance.



Efforts to transfer resistance into the indica genetic background failed to produce lines that combined resistance to RYMV and adaptation to the lowland rainfed or irrigated conditions prone to RYMV. Subsequent studies were based on genetic mapping to identify quantitative trait loci (QTL) and genetic markers of resistance. We used an IR64 × Azucena double-haploid population to map major QTLs for resistance to RYMV. Approaches combined virus content assessment by enzyme-linked immunosorbent assay, symptom scoring, and assessing the impact of inoculation on plant morphology and development.

Resistance to RYMV was found to be under polygenic control with complex interactions between QTLs, genetic background and plant morphology (Albar et al. 1998). Fifteen QTLs were found on seven chromosome segments. All except one of the favorable alleles came from the resistant parent, Azucena. Phenotypic correlations between resistance and plant architecture and development were observed, confirming breeders' observations. Three resistance QTLs were confirmed in the field at WARDA and under controlled conditions at Montpellier.

Particular attention was given to resistance QTLs found to be independent of plant morphology and observed in different genetic backgrounds. A resistant near-isogenic line of IR64 was used to confirm a major QTL on chromosome 12 and to refine its location (Ahmadi et al. 2001). This QTL was found to delay virus invasion of the plant through the vascular bundle sheath-phloem interface (Ioannidou et al. 2003). This QTL was mapped to a 1.5 megabase (Mb) segment of the centromeric part of chromosome 12. Current work is focused on a gene presenting similarity to the middle domain of the eukaryotic translation initiation factor from the eIF(iso)4G family, which is the best candidate to be the gene underlying to this QTL (Boisnard et al. 2004)

Cloning of a major resistance gene to RYMV

The characterization and identification of a gene conferring high resistance to RYMV was a major achievement of collaboration with WARDA. This resistance was of special interest for rice breeding as it conferred immunity to the plant long after mechanical inoculation. While this high resistance had already been described in several accessions of *O. glaberrima*, WARDA identified an *O. sativa* accession (cv. Gigante) showing similar resistance to a wide range of isolates of the virus. A single recessive gene was found to be responsible for this resistance and occurred at the same locus, called resistance to yellow mottle virus-1 (*RYMV-1*), in both cv. Gigante and the *O. glaberrima* accession Tog5681 (Ndjiondjop et al. 1999). The locus was mapped on chromosome 4 in a 3.7 centiMorgan interval (Albar et al. 2003). Recently this resistance locus was shown to encode eIF(iso)4G, and mutations in the conserved domain of the protein are giving different alleles, Tog5681 and Tog5672, for resistance in cv. Gigante and in resistant *O. glaberrima* accessions (Albar et al. 2006). These observations were therefore consistent with the occurrence of natural isolates or variants artificially selected after serial inoculations with different strains of the virus, which can overcome one or the other resistant gene (Fargette et al. 2002).

The resistance gene has been transferred to several susceptible indica varieties (BG90-2, Bouaké189 and Jaya) to confirm its effectiveness in conferring resistance. These lines have been made available to WARDA and interested NARS. The development of resistant isolines in different genetic backgrounds was also useful for testing the durability of resistance (Sorho et al. 2005). A mutation able to overcome the resistance mechanism was identified in a virulent isolate of RYMV selected after serial passages. This mutation was in the gene encoding the genome-linked viral protein VPg, and introducing this mutation in an infectious but avirulent clone was sufficient to confer the ability to overcome plant resistance (Hébrard et al. 2006).

A first genetic map of *O. glaberrima*

The finding that *O. glaberrima* had been domesticated independently of *O. sativa* (see *Unraveling the origins and genetic diversity of cultivated rice* on page 11 of this volume) generated a lot of interest in introgression and interspecific hybridization between the two species to introduce novel genes and so widen their adaptation to different rice-growing conditions. However, *O. glaberrima* is isolated from *O. sativa* by strong reproductive barriers, including pollen sterility and female sterility in the crosses. WARDA developed backcross breeding and anther culture to bypass these reproductive barriers and succeeded in breeding introgressed lines with good plant type and improved weed competitiveness. However, the absence of an extended linkage study between the two cultivated rice species limited the potential use of the genetic diversity in *O. glaberrima*.

In 2000, a molecular linkage map was published based on an (*O. sativa* × *O. glaberrima*) × *O. sativa* backcross progeny (Lorieux et al. 2000). IR64 served as the *O. sativa* recurrent parent, while the RYMV-resistant Tog5681 accession was the *O. glaberrima* parent. The genetic map was based on polymerase chain reaction markers, essentially microsatellites and sequence-tagged sites. Several traits were measured on the first backcross plants, and major genes and QTLs for these traits were mapped. Several of these genes corresponded to previously identified loci. The map length overall was comparable to those observed in indica-japonica crosses, indicating that recombination between the two species occurred without limitation. However, three chromosomes showed discrepancies with indica-japonica maps. The colinearity with intraspecific maps was very good, confirming previous cytological observations. A strong segregation-distortion hotspot was observed on chromosome 6 near the *waxy* gene, indicating the presence of *s10*, a previously identified sporo-gametophytic sterility gene. This initiative was a first step in localizing QTLs of interest and providing the basis for marker-assisted selection in *O. glaberrima*. This approach was a prerequisite to identifying sterility loci by screening large progenies for fertility and to monitoring the construction of introgressed genetic material designed to make the *O. glaberrima* genome accessible to breeders.

Conclusion and future directions of collaboration

Future collaboration with CGIAR Centers on rice genetics and genomics are now envisaged from a post-genomics perspective. The availability of the complete genome sequences of two rice accessions representative of the two subspecies (the japonica Nipponbare and the indica 93-11), as well as many of other tools such as genetic maps and collections of mutants, is expected to expedite gene discovery and the functional analysis of agronomically important genes. With one of the smallest genomes (370-380 Mb) in the *Oryza* genus, the African cultivated species *O. glaberrima*, together with its wild progenitor *O. barthii* (syn. *O. breviligulata*), will be relatively simple, compared with the Asian species, *O. sativa*, to analyze for genetic diversity and the bottleneck effect of domestication and for modeling the cultivated rice genome. To these ends, bacterial artificial chromosome libraries of important *O. glaberrima* accessions have been prepared recently, including CG14 (the parent of the new rices for Africa [NERICA] varieties developed by WARDA), Tog5681 and IRGC103544 (two varieties used for constructing chromosome segment substitution lines in a project supported by the Generation Challenge Program). With increased ability to finely sequence the genome, new opportunities are arising to focus studies on particular chromosome segments and so expedite the positional cloning of original genes and alleles in *O. glaberrima*. Future collaboration between French and CGIAR Centers will focus on many other applications of marker-assisted selection in plant breeding to enlarge the available genetic diversity, and in developing appropriate breeding schemes.

¹ Alain Ghesquière, PhD, is head of the Rice Genetics and Genomics team in the Institut de recherche pour le développement (IRD) in Montpellier, France, in charge of multiplying and characterizing the tDNA insertion mutant collection in collaboration with the International Center for Tropical Agriculture (CIAT by its Spanish acronym) in Cali, Colombia.

² Nour Ahmadi, PhD, is head of the Rice Breeding and Crop Management research unit of the Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD) in Montpellier, France; a geneticist with extensive experience in breeding rice for rainfed ecosystems; and supervisor of several joint research projects with Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR) Centers.

³ Laurence Albar, PhD, of IRD, is the cloner of the *eIF(Iso)4G* gene, which confers high resistance to rice yellow mottle virus (RYMV), currently working on identifying RYMV resistance genes/quantitative trait loci (QTLs).

⁴ Denis Fargette, PhD, is a plant virologist in charge of the RYMV-rice interaction program at IRD.

⁵ Monty Jones, PhD, was leader of the upland rice breeding program at the Africa Rice Center (WARDA) for more than 10 years, notably developing interspecific rice hybridization to create new rices for Africa (NERICA) varieties, and is now executive secretary of the Forum for Agricultural Research in Africa.

⁶ Mathias Lorieux, PhD, is an IRD plant geneticist posted at CIAT to ensure the multiplication of the Génoplante tDNA insertion mutant collection and leader of the Generation Challenge Program project on constructing interspecific introgressed lines involving different rice species.

⁷ Marie-Noël Ndjondjop, PhD, is head of the WARDA rice biotechnology program, where she did post-doc work, having earned a PhD at IRD in Montpellier on a grant from the Rockefeller Foundation and Cornell University.

⁸ F. Sorho is a PhD student supported by the IRD Training and Support Department and by WARDA, scheduled to present his thesis on the phylogeography of RYMV and the durability of natural resistance in 2006 at the University of Abidjan.

Selected joint papers arising from French collaboration with WARDA and African NARS

Abubakar Z, Ali F, Pinel A, Traore O, N'Guessan P, Notteghem J-L, Kimmings F, Konaté G, Fargette D. 2003. Phylogeography of rice yellow mottle virus in Africa. *J. Gen. Virology* 84:733-744.

Ahmadi N, Albar L, Pressoir G, Fargette D, Ghesquière A. 2001. Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus, III: Analysis of QTL efficiency in an experimental process of marker assisted introgression. *Theor. Appl. Genet.* 103:1084-1092.

Albar L, Bangratz-Reyser M, Hébrard E, Ndjondjop M-N, Jones M, Ghesquière A. 2006. Mutations in the eIF(iso)4G translation initiation factor confer resistance of rice to rice yellow mottle virus. *Plant J.* (in press).

Albar L, Ndjondjop M-N, Esshak Z, Berger A, Pinel A, Fargette A, Ghesquière A. 2003. Fine mapping of a gene required for RYMV cell-to-cell movement. *Theor. Appl. Genet* 107:371-378.

Albar L, Lorieux M, Ahmadi N, Rimbault I, Pinel A, Sy AA, Fargette D, Ghesquière A. 1998. Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus, I: QTLs identification and relationship between resistance and plant morphology. *Theor. Appl. Genet.* 97:1145-1154.

Boisnard A, Albar L, Ghesquière A. 2004. Eukaryotic translation initiation factors as candidates genes for RYMV resistance in rice. Poster presented at the Plant Genomics European Meetings, 22-25 September 2004. Lyon, France.

Fargette D, Pinel A, Traoré O, Ghesquière A, Konaté G. 2002. Emergence of resistance isolates of rice yellow mottle virus during serial inoculations. *Eur. J. Plant Path.* 108:585-591.

Hébrard E, Pinel-Galzi A, Bersoult A, Siré C, Fargette D. 2006. Emergence of a resistance-breaking isolate of rice yellow mottle virus during serial inoculations is due to single substitution in the genome-linked viral protein VPg. *J. Gen. Virol.* 87:1369-1373.

Ioannidou D, Pinel A, Brugidou C, Albar L, Ahmadi N, Ghesquière A, Nicole M, Fargette D. 2003. Characterization of the effects of a major QTL of the partial resistance to rice yellow mottle virus using a near-isogenic-line approach. *Physiol. Mol. Plant Path.* 63:213-221.

Lorieux M, Ndjondjop M-N, Ghesquière A. 2000. Genetic studies on *Oryza sativa* × *O. glaberrima* hybridization: A microsatellite-based genetic linkage map. *Theor. Appl. Genet.* 100:593-601.

Ndjondjop M-N, Albar L, Brugidou C, Fargette D, Fauquet C, Ghesquière A. 1999. Characterization and genetic basis of the high resistance level to rice yellow mottle virus (RYMV) found in some *O. sativa* and *O. glaberrima* accessions. *Plant Dis.* 83:931-935.

N'Guessan P, Pinel A, Caruana M-L, Frutos R, Sy A, Ghesquière A, Fargette D. 2000. Evidence of the presence of two serotypes of rice yellow mottle virus in Côte d'Ivoire. *Eur. J. Plant Path.* 106:167-178.

N'Guessan P, Pinel A, Sy A, Ghesquière A, Fargette D. 2001. Distribution, pathogenicity and interactions of two strains of rice yellow mottle virus in forested and savannah zones of West Africa. *Plant Dis.* 85:59-64.

Sorho F, Pinel A, Traoré O, Bersoult A, Ghesquière A, Hébrard E, Konaté G, Séré Y, Fargette D. 2005. Effectiveness and durability of three types of resistance in rice to rice yellow mottle virus. *Eur. J. Plant Path.* 112:349-359.



LA FRANCE ET LE CGIAR:

DES RÉSULTATS SCIENTIFIQUES POUR LA RECHERCHE AGRICOLE INTERNATIONALE

La présente publication a été coordonnée par Daniel Rocchi et placée sous l'autorité scientifique d'un Comité de rédaction composé paritairement d'experts du CGIAR et français: Denis Despréaux,¹ Emile Frison,² Bernard Hubert³ et Manuel Lantin⁴.

Les articles signés sont de la responsabilité de leurs auteurs et les textes non signés sont de la responsabilité du Comité de rédaction.

Daniel Rocchi est officier de liaison au Secrétariat du CGIAR à Washington depuis 2005, mis à disposition par le ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Titulaire d'un doctorat en sociologie rurale, il a occupé différentes responsabilités en matière d'aménagement et de développement de l'espace rural, notamment aux Antilles, avant de rejoindre, en 1999, la Direction générale de l'enseignement et de la recherche de ce ministère où il s'est spécialisé dans l'administration de la recherche.

¹ Denis Despréaux est sous directeur de la performance de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation au ministère de l'Éducation nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Il est aussi secrétaire exécutif de la Commission de la recherche agricole internationale (CRAI). Titulaire d'un doctorat en phytopathologie, il a consacré sa carrière scientifique aux cultures pérennes tropicales.

² Emile Frison est directeur général de l'Institut international des ressources phytogénétiques (IPGRI) depuis août 2003. Titulaire d'un doctorat en pathologie des plantes, il a consacré une part importante de sa carrière à la recherche agricole internationale pour le développement.

³ Bernard Hubert, titulaire d'un doctorat en écologie, a étudié l'écologie des rongeurs en Afrique de l'ouest avant de rejoindre l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) où il a dirigé le département de recherche «Systèmes agraires et développement ». Aujourd'hui, il est directeur scientifique de la division Société, Économie, Décision et responsable de la problématique de développement durable à l'INRA, où il est directeur de recherche. Il est aussi directeur d'études à l'École des hautes études en sciences sociales (EHESS) de Paris.

⁴ Manuel Lantin, conseiller scientifique au Secrétariat du CGIAR, est titulaire d'un doctorat de phytogénétique. Avant de rejoindre le Secrétariat du CGIAR, il a été responsable de la recherche et de la formation au ministère de l'Agriculture des Philippines, président du département d'agronomie et directeur adjoint de l'Institut d'amélioration des plantes de l'Université des Philippines à Los Bagnos.