

Tolérance au flétrissement bactérien chez la tomate induite après vitroculture

Elie Nsika Mikoko

La culture de la tomate au Congo souffre de maladies dues aux bactéries [1, 2] (particulièrement *Pseudomonas solanacearum*, agent du flétrissement bactérien, figure 1) et aux virus [3]. Les voies classiques d'obtention des variétés résistantes (hybridations intra ou interspécifiques, voire intravariétales) donnent des résultats instables (les plantes obtenues résistent pendant une ou deux saisons de culture), du fait de la grande variabilité de l'agent pathogène, de la ségrégation des hybrides, mais surtout parce que les producteurs ne renouvellent pas toujours leurs semences [4]. Le système de culture paysanne permet d'atténuer les effets du flétrissement [5]; cependant, à plus long terme, une solution génétique s'impose. Nous avons opté à cet égard pour la variation somaclonale [2, 4, 6-9], en cultivant *in vitro* des cotylédons excisés à partir de jeunes plants de tomate, et en soumettant les cals obtenus à une pression sélective par l'inoculation de *Pseudomonas solanacearum* au cours des différents transferts sur les milieux de culture précédant la régénération des plantules [5, 10].



E. Nsika Mikoko : Laboratoire de phytopathologie, Département de Biologie et Physiologie végétales, Faculté des Sciences, BP 69, Brazzaville, Congo.

Tirés à part : E. Nsika Mikoko

Figure 1. Zones où le flétrissement bactérien a été recensé au Congo (carte de E. Nsika Mikoko).

Figure 1. Zones where bacterial wilt has been reported in the Congo.

Matériel et méthodes

Deux variétés de tomate lignées fixées, une locale MY 104 et une autre originaire de Chine (AVRDC) PT 778, ont été utilisées comme matériel de départ. Les cotylédons excisés ont été cultivés *in vitro* sur le milieu MS et ont fourni des cals régénérants. Une suspension bactérienne préparée à partir de plantes infectées par *P. solanacearum* a été injectée dans ces cals [5].

À partir de sept plantes (deux pour PT 778 et cinq pour MY 104) régénérées après traitement bactérien, on a obtenu des fruits qui furent récoltés à maturité. Les graines prélevées ont été nettoyées par la méthode de lavage à l'acide chlorhydrique mélangé à la rapidase [11] et mises à germer. Le comportement des plantules a été suivi en présence de bactéries dans le sol. Plante autogame, la tomate s'autoféconde naturellement.

Deux générations ont été ainsi suivies au champ selon un dispositif « bloc randomisé ». Dans un premier essai, 250 plantes issues d'autofécondations des plantes régénérées ont été réparties en sept familles : A1, B1 (issues de PT 778) et C1, D1, E1, F1, G1 (issues de MY 104). Dans un second essai, on a comparé 525 plantes réparties en sept familles constituant la deuxième génération d'autofécondation après régénération. La répartition des plantes par famille ascendante est donnée dans les *tableaux 1 et 2*. Les descendances par autofécondation des plantes des variétés PT 778 et MY 104, cultivées *in vitro* et régénérées après avoir été inoculées avec de l'eau distillée stérile, ont été utilisées comme témoins.

Les plantes placées dans un sol contaminé après une primoculture de tomate, ont été inoculées, par injection, à l'aide d'une seringue, de 1 millilitre de suspension bactérienne au collet après une blessure au scalpel.

Résultats et discussions

Les résultats sont consignés dans les *tableaux 1 et 2*. La tolérance totale relevée en première génération se vérifie en seconde génération sans présenter de ségrégation [4]. Les variétés témoins

Tableau 1

Sensibilité des tomates vis-à-vis de *Pseudomonas solanacearum* (mars à juillet 1994)

Variété d'origine	PT 778			Variété locale MY 104					
	T ₁	A ₁	B ₁	T ₂	C ₁	D ₁	E ₁	F ₁	G ₁
Famille	T ₁	A ₁	B ₁	T ₂	C ₁	D ₁	E ₁	F ₁	G ₁
Nb PI T	32	32	32	32	32	32	32	32	32
Nb PI F	28	26	29	32	27	28	24	26	30
Nb PI M	26	0	0	24	0	0	0	0	0
Nb PI S	2	26	29	8	27	28	24	26	30

Nb PI T = nombre de plantes testées.

Nb PI F = nombre de plantes arrivées à la floraison.

Nb PI M = nombre de plantes ayant manifesté les symptômes de la maladie.

Nb PI S = nombre de plantes apparemment saines en fin de culture.

T1 = témoin non inoculé de la variété PT 778 après une autofécondation.

A1... B1 = descendants après une autofécondation des plantes régénérées à partir de cals issus de la variété PT 778.

T2 = témoin de la variété MY 104 après une autofécondation.

C1... G1 = descendance après une autofécondation des plantes obtenues à partir de cals de la variété MY 104.

Susceptibility of different tomato varieties to *Pseudomonas solanacearum* (March to July 1994)

Tableau 2

Sensibilité des tomates vis-à-vis de *Pseudomonas solanacearum* (septembre 1994 à janvier 1995)

Variété d'origine	PT 778			Variété locale MY 104					
	T ₁	A ₂	B ₂	T ₂	C ₂	D ₂	E ₂	F ₂	G ₂
Famille	T ₁	A ₂	B ₂	T ₂	C ₂	D ₂	E ₂	F ₂	G ₂
Nb PI T	60	56	60	60	55	60	58	56	60
Nb PI F	56	56	55	56	55	50	55	56	48
Nb PI M	56	0	0	43	0	0	0	0	0
Nb PI S	0	56	55	13	55	50	55	56	48

Nb PI T = nombre de plantes testées.

Nb PI F = nombre de plantes arrivées à la floraison.

Nb PI M = nombre de plantes ayant manifesté les symptômes de la maladie.

Nb PI S = nombre de plantes apparemment saines en fin de culture.

T1 = témoin non inoculé de la variété PT 778 après une autofécondation.

A2... B2 = descendants après une autofécondation des plantes régénérées à partir de cals issus de la variété PT 778.

T2 = témoin non inoculé de la variété MY 104 après une autofécondation.

C2... G2 = descendance après une autofécondation des plantes obtenues à partir de cals de la variété MY 104.

Susceptibility of different tomato varieties to *Pseudomonas solanacearum* (September 1994 to January 1995)

confirment leur comportement sensible en présence des bactéries, tandis que les descendants des cals ayant régénéré des plantules après avoir été soumis à l'inoculation par *P. solanacearum* n'ont pas montré de symptômes.

La descendance des plantes issues de néoformation à partir des cals ayant subi une pression de sélection maintient donc son niveau de tolérance, corroborant ainsi les résultats de Ene Obong [12].

L'hypothèse d'une mutation intervenue chez les plantes régénérées comme cause de la tolérance semble exclue, la totalité des plantes d'une descendance manifestant le phénotype résistant. Des résultats similaires sur variants de tomate ont été attribués à une « mémorisation » de la tolérance au flétrissement bactérien : les variétés sensibles posséderaient un mécanisme potentiel de tolérance, de nature épigénétique, dont les signaux auraient

Summary

Vitroculture-induced tolerance to bacterial wilt in tomato

E. Wsika Mikoko

Vitrovariations have been tentatively used by plant breeders, but there are relatively few documented examples of variant traits being stabilized through sexual reproduction.

Neoformed tomato plants were regenerated after vitroculture of calli inoculated with Pseudomonas solanacearum, the causal agent of bacterial wilt. Surviving resistant calli gave variant plants exhibiting tolerance to bacterial wilt, although the initial tomato lines were susceptible. The first and second selfed generations from these variant plants were experimentally contaminated and tested in plots. They exhibited the same level of field tolerance as the initial regenerated variant plant. There was no segregation among the progeny (see Tables 1 and 2). Several hypotheses are proposed to explain these results.

As tomato is an autogamous species (naturally reproduced by selfing), tolerant families could hopefully be the source of new tomato varieties with sustainable tolerance to bacterial wilt.

Cahiers Agricultures 1996 ; 5 : 460-2.

été réprimés au cours de la domestication [13]. On peut aussi penser qu'un gène de tolérance ne serait pas exprimé dans les variétés de départ, du fait des corrélations d'inhibition existant au niveau de la plante entière [14]. La levée de ces corrélations, suite à l'excision, à la mise en culture et à la pression de sélection des bactéries durant la culture *in vitro*, donnerait aux cellules de la plante une large ouverture d'expression génétique et de régulation faisant réapparaître la tolérance au flétrissement bactérien. De tels mécanismes restaurés pourraient être héréditairement mémorisés sans donner lieu à ségrégation dans un système d'autofécondation.

Ces résultats pourraient s'inscrire dans le cadre de la théorie de Demarly [15], selon laquelle le gène n'est pas une structure figée, statique, mais plutôt un état dynamique susceptible d'enregistrer en son sein des mutations, des translocations, des excisions et des intégrations, donnant lieu soit à l'apparition de nouveaux comportements au niveau phéno-

typique, soit à la remise en jeu de caractéristiques ancestrales qui auraient été réprimées dans les conditions de domestication et de sélection artificielle.

Le comportement manifesté sur le terrain par les descendants des plants de tomate issus de culture *in vitro* [5] montre que cette technique n'est pas incompatible avec la pratique agricole. Des études histologiques devraient préciser la relation entre bactéries et tissus de l'hôte chez les plantes tolérantes et sensibles ■

Ce travail a été réalisé grâce à un appui financier de l'Agence francophone pour l'Enseignement supérieur et la Recherche scientifique (AUPELF-UREF), par le biais de son réseau « Biotechnologies et Génie Génétique des Plantes ».

Références

1. De Kochko A. Du riz transgénique pour le Tiers-monde. *ORSTOM Actualités* 1993 ; 41 : 19-23.

2. Nsika Mikoko E. Induction de la tolérance au *Pseudomonas solanacearum* chez la tomate par l'utilisation de la variation somaclonale en culture *in vitro*. *Comptes rendus du séminaire IFS sur les interactions plantes/micro-organismes*. Dakar, Sénégal, 1992 : 397-400.

3. Boher D. Les bactéries des plantes cultivées en République populaire du Congo. *Communication au séminaire sur la plante et l'homme*. Brazzaville, 4-6 mars 1987 ; 6 p.

4. Nsika Mikoko E. Le flétrissement bactérien : un handicap à la culture de la tomate au Congo. *Annales de l'Université du Bénin, Série Sciences* 1989 ; 9 : 36-48.

5. Nsika Mikoko E. Amélioration de la tomate pour la résistance au flétrissement bactérien provoquée par *Pseudomonas solanacearum*. In : *Quel avenir pour l'amélioration des plantes ?* Paris : AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, 1995 : 131-7.

6. Chlyah M. *Cours sur les cultures in vitro*. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Complexe horticole d'Agadir, 7 mai-15 juin 1990, Agadir, Maroc, 12 p.

7. Demarly Y, Sibi M. *Amélioration des plantes et biotechnologies*. Collection Sciences en marche. Paris : AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, 1989 ; 152 p.

8. Chagvardieff P. L'utilisation de la variabilité exprimée spontanément en culture *in vitro* en vue de l'amélioration des plantes. *Bull Soc Bot Fr (spécial Actual Bot)* 1985 ; 314 : 37-103.

9. Hayakawa T, Zhu Y, Itoh K, Izawa T, Shimamoto K, Toriyama S. Genetically engineered rice resistant to rice strips, an insect transmitted virus. *Proceeding of National Academy of Sciences of the USA*, 1992 ; 89 : 9865-9.

10. Inze D. Plant defence systems against invading pathogens. *Comptes rendus du séminaire IFS sur les interactions plantes/micro-organismes*. Dakar, Sénégal, 1992 ; p. 267.

11. Nsika Mikoko E. *Analyse de la variabilité dans la descendance des plantes obtenues par culture in vitro des tissus somatiques de tomate (Lycopersicon esculentum Mill)*. Thèse de doctorat, 3^e cycle. Université de Paris XI, Orsay, France, 1982 ; 118 p.

12. Ene Obong EE. Plant genetic transformation strategies for crops improvement. *ABN symposium : Biotechnology for rapid development in Africa*. Nairobi, Kenya, 1995 : 177-85.

13. Sibi M. Non mendelian heredity. Genetic analysis of variant plants regenerated from *in vitro* culture : epigenetic and epigenic. In : Semal J, ed. *Somaclonal variations and crop improvement*. Dordrecht (Pays-Bas) : Ed. Martinus Nijhoff Pub, 1986.

14. Nozeran R, Bancilhon L. Les cultures *in vitro* en tant que techniques pour l'approche des problèmes posés par l'amélioration des plantes. *Ann Amélior Plantes* 1972 ; 22 : 167-85.

15. Demarly Y. Technical aspects of plant biotechnologies. In : *Biotechnologies for developing countries. Proceeding of an International Symposium organized by CTA and FAO*, 26-30 juin 1989, Luxembourg : 47-58.