

THEME 4 : **CREATION ET SELECTION VARIETALE D'UNE AUBERGINE LOCALE** **RESISTANTE AU FLETRISSEMENT BACTERIEN PROVOQUE PAR** ***RALSTONIA SOLANACEARUM***



CROISEMENT DES DEUX PARENTS POUR OBTENIR DES LIGNEES F1

Code essai : 11^E1109

Durée : 2011

Auteurs : Emmanuelly TRULES - Steve PAYET - Jean Denis PAYET - LINDERME Daphné

Partenaire : CIRAD

1. HISTORIQUE ET CONTEXTE

1.1 - Contexte local

L'aubergine (*Solanum melongena*) est à la Réunion une culture économiquement intéressante pour les producteurs et reste très appréciée des consommateurs locaux. La culture de l'aubergine sur l'île représente 1800 à 2000 t/an (Chambre d'Agriculture de la Réunion, 2008). Il s'en produit tout au long de l'année dans les bas mais aussi durant la période chaude dans les hauts de l'île. Cependant, le flétrissement bactérien, causé par la bactérie *Ralstonia solanacearum*, constitue un des freins majeurs au développement de cette culture sur l'île.

En effet, la variété d'aubergine cultivée à la Réunion présente une sensibilité accrue à ce pathogène. Pour remédier à ce problème, les agriculteurs utilisent un porte greffe résistant : le bringelier marron (*Solanum torvum* SW ou *Solanum ficifolium* Ortega). Ce porte greffe présente l'avantage de résister aux trois phylotypes présents à la Réunion. Par contre, la greffe sur bringelier marron présente des contraintes importantes rendant sa mise en application difficile et un coût important à l'achat (environ 1€ par plant).

1.2 - Contexte scientifique

Malgré de nombreux efforts pour diversifier les stratégies de lutte intégrée contre cette maladie, la résistance variétale s'avère la méthode la plus prometteuse. La situation épidémiologique complexe de la Réunion (présence de 3 des 4 phylotypes de *R. solanacearum*) requiert la mise en œuvre d'une stratégie de résistance variétale basée sur une connaissance précise de la diversité des populations pathogènes et de leurs interactions avec les gènes de résistance utilisés. Des travaux récents au CIRAD ont abouti à la caractérisation des principales sources de résistance au flétrissement bactérien chez l'aubergine (Lebeau et al., 2011). Des tests de résistance de la bactérie ont permis d'identifier des variétés résistantes. Parmi les accessions identifiées comme résistantes, l'une d'entre elles, « AG91-25 » (Ano et al., 1991), codée plus bas « E6 », a fait l'objet d'un travail de cartographie génétique. Un gène majeur, *Ers-1*, contrôle une résistance très forte vis-à-vis des souches qui sont majoritairement répandues dans les zones de production de l'aubergine situées dans les bas de l'île (Lebeau et al., TAG en prep.). *ERs-1* constitue le premier gène majeur de résistance à *R. solanacearum* identifié chez une espèce cultivée, ainsi que le premier gène de résistance à une maladie cartographié chez l'aubergine.

D'autres publications font état de facteurs de résistance majeurs identifiés dans des accessions originaires d'Inde (Nunome et al., 1998 ; Fukuoka et al., 2010), de Chine (Cao et al., 2009), ou encore d'Indonésie (Li et al., 2006). Il existe de toute évidence des sources diversifiées et de haut niveau de résistance à *R. solanacearum* exploitables chez l'aubergine. Les tests de résistance réalisés à la Réunion ont montré la présence, dans les accessions « Dingras » (codées E1) et « Surya » (codées E4) notamment, de résistances à spectre large vis-à-vis des différents phylotypes de la bactérie.

1.3 - Schéma de sélection

Le croisement variétal est une technique permettant l'obtention de nouvelles variétés aux caractéristiques intéressantes. En effet, un caractère intéressant, tel que la résistance aux maladies, la tolérance au stress ou encore l'amélioration de critères de qualité, peut être présent dans une plante mais pas dans les lignées élites à la base des variétés commerciales. Le travail consiste à créer une lignée identique à la lignée élite, mais possédant en plus ce caractère. Pour obtenir ce résultat, le procédé consiste à effectuer des rétrocroisements de variétés, encore appelés back-cross. Plusieurs étapes sont effectuées : la première étape consiste à choisir les géniteurs selon leurs caractéristiques génotypiques ou phénotypiques intéressantes. Dans un second temps, les deux lignées sont croisées puis leur descendance est rétrocroisée avec un des parents (back-cross), ce qui permet de fixer le caractère intéressant (voir figure 1).

D'un point de vue génétique, les descendants issus du premier croisement possèdent 50% du patrimoine génétique de la lignée élite et 50% du patrimoine du donneur. Lors des back-cross suivants, la proportion du génotype élite augmente, les individus obtenus au deuxième back-cross sont 75% élite et 25% donneur. Au bout du septième back-cross, la part de la lignée élite est de 96,88%, on estime alors que la lignée obtenue est suffisamment proche de la lignée élite. Dans le cadre de notre essai, on considère que 3 back-cross sont suffisants pour fixer une lignée intéressante.

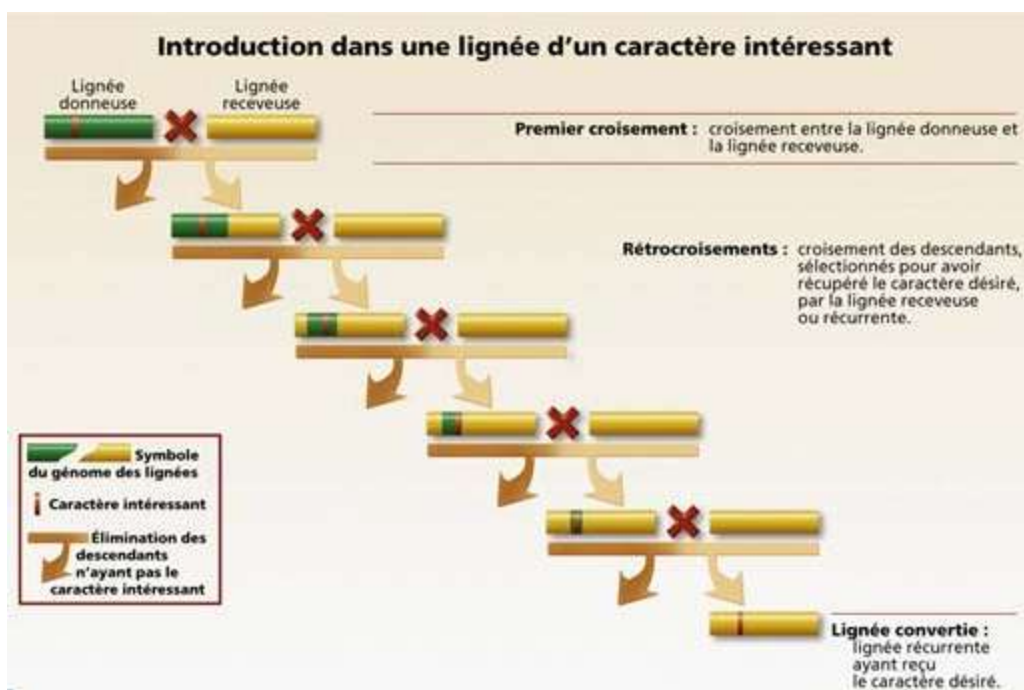


Figure 1 : schéma du rétrocroisement (source : <http://www.gnis-pedagogie.org/pages/classbio/chap2/17.htm>)

L'exploitation de la résistance variétale, par la technique du croisement variétal, apparaît donc comme la stratégie la plus adaptée pour la création d'une variété résistante au flétrissement. Cette méthode a déjà été exploitée depuis longtemps par les sélectionneurs ; cependant force est de constater que la sélection butte toujours sur la fluctuation des propriétés de résistance du matériel sélectionné. C'est pour cela que notre travail s'effectue en collaboration avec le CIRAD qui pourra d'une part éliminer les descendants n'ayant pas acquis le caractère intéressant par des tests d'inoculation de la bactérie. D'autre part, grâce à des marqueurs moléculaires, l'information réelle du patrimoine génétique des plantes pourra être précisée.

2. OBJECTIF ET PROGRAMME

L'objectif est de fournir aux producteurs une variété d'aubergine résistante à *Ralstonia solanacearum* et présentant les caractères phénotypiques des variétés locales, ceci dans un but de conforter la production réunionnaise et amoindrir le coût du secteur de plantation.

Ce programme de sélection s'effectue en collaboration avec le CIRAD, qui a déjà effectué une première sélection de variétés résistantes (voir plus haut « I.3. Contexte scientifique »). Le travail de l'ARMEFLHOR est de procéder aux rétrocroisements des variétés dites « péi » («le gros bringelle » appelé aussi bringelle rond et le « bringelle saucisse »), avec les variétés possédant le gène de résistance, afin de sélectionner une ou plusieurs variétés intéressantes. Le CIRAD effectuera ensuite le choix d'individus intéressants directement dans les descendance backcross F1 (BC1F1) inoculées artificiellement avec un mélange des 3 souches de la bactérie.

En 2011, un croisement des quatre variétés possédant le gène de résistance à *Ralstonia Solanacerum* (lignées donneuses) avec les deux aubergines locales (lignées receveuses) a été effectué. Ce croisement nous permet d'avoir un premier matériel (F1) détenteur du gène de résistance qui sera à nouveau croisé avec les 2 variétés locales (backcross 1) puis testé en 2012. D'autres rétrocroisements seront ensuite effectués les années suivantes entre descendants et lignées receveuses afin d'obtenir au final une lignée récurrente ayant reçu le caractère désiré.

2.1 - Croisement des lignées parentales (2011)

Le croisement des lignées parentales a été effectué en 2011. Il a permis l'obtention des individus F1 qui seront utilisés pour la suite du programme, lors du premier back-cross. Ces individus F1, porteurs de 50% de gènes « bringelle péi » et à 50% de gènes « aubergine résistante » présentent des caractères phénotypiques particuliers qui ont été décrits et présentés en annexe 3.

a) Matériel et dispositif expérimental

■ Matériel végétal

Concernant les lignées donneuses, nous disposons de quatre accessions pourvues du gène de résistance à *Ralstonia solanaceum* (E1, E2, E3 et E6). Ces variétés, d'origines diverses, nous ont été fournies par le CIRAD (tableau1). Seul le déterminisme génétique de la résistance au flétrissement de la lignée recombinante E6 a été caractérisé.

Tableau 1 : Ressources génétiques des lignées d'aubergine (*Solanum melongena*) utilisées pour la création variétale.

Code	Accession	Autre nom	Origine géographique	Origine semences
E1	MM853	Dingras multiple purple	Philippines	INRA
E2	MM643	SM6	croisement	INRA
E3	MM152	Ceylan, SM164	Sri Lanka	INRA
E6	MM960	AG91-25, SD20	croisement	INRA

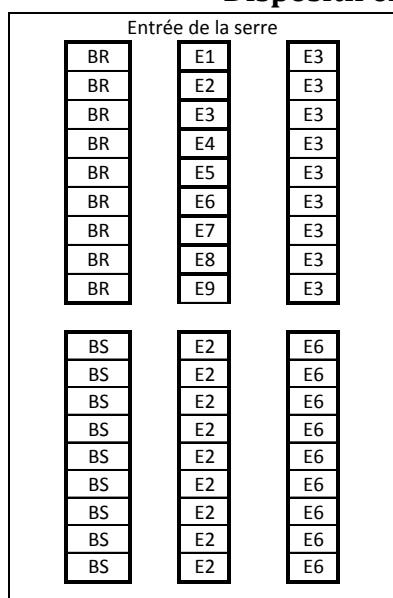
Pour ce qui est des lignées receveuses, nous disposons de semences de deux variétés inscrites au catalogue officiel et produites à la Réunion, le gros bringelle ou bringelle rond (BR) et le bringelle saucisse (BS).

■ Sélection du site

Pour l'obtention de la lignée F1, les croisements sont effectués sous abri sur la station de l'ARMEFLHOR à Bassin Martin. Le choix de faire cette manipulation sous abris se justifie pour plusieurs raisons tels que :

- ✓ Milieu sécurisé par son confinement limitant ainsi l'entrée des ravageurs (aleurodes, thrips, pucerons, etc...)
- ✓ Pas de contact direct avec le sol, limitant les possibilités d'infestation par *Ralstonia* ou *Phomopsis*
- ✓ Fécondation contrôlée car pas d'entrée de pollinisateur notamment l'abeille.

■ Dispositif expérimental



Les variétés E1, E2, E3, E6, BS et BR sont semées 3 à 4 semaines avant plantation. Neuf plants de chaque lignée sont cultivés soit un total de 54 plants. Ils sont plantés sous abris dans des sacs de fibre de coco, pour une densité de 0.2 plants/m². La serre, d'une superficie de 250 m², est entourée par du filet de type « Insect-proof » (figure 2).

Figure 2 : Dispositif de plantation pour le 1^{er} croisement (2011)

▪ **Itinéraire technique (conduite de la culture)**

La culture est irriguée par un système de goutteurs, relié à la station fertirrigation de l'ARMEFLHOR, appelée « élotec ». Ce module permet d'assurer le suivi au niveau fertilisation et désinfection de l'eau d'irrigation.

▪ **Fertilisation**

En l'occurrence, la fertilisation utilisée est une fertilisation de type « Tomates classique ». La conductivité de la solution fertilisante est maintenue à 2.0 µS/cm.

▪ **Traitement phytosanitaire**

Les traitements se font uniquement en présence de ravageurs ou de pathogène, pas de traitements préventifs sauf si le climat le fait pressentir.

b) Description de la méthode de multiplication

Le croisement des variétés s'effectue selon une procédure de croisement manuel. Du pollen mûr de la plante détenant le gène de résistance (E1, E2, E3 et E6) est prélevé et appliqué sur le pistil du porte graine (aubergine ronde et saucisse) dont les anthères sont préalablement ôtées. Des rubans adhésifs, placés autour de la plante pollinisée, assurent l'absence de fécondation par du pollen étranger.

▪ **Description de la F1.**

En se basant sur certains critères descriptifs de l'ECPGR (European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources, minimum descriptors for eggplant, Capsicum and tomato), des descriptions des plants issus du premier croisement (F1) sont effectuées. Les critères descriptifs sont résumés dans le tableau 2

Tableau 2 : Critères de descriptions des plants d'aubergine, inspirés des descripteurs de l'ECPGR- eggplant

	Descripteur	Stade
PLANTE	Port de la plante	très vertical
		vertical
		intermédiaire
		prostré
		très prostré
	Nombre de piquants sur les feuilles (face supérieure)	aucune
		très peu (<3)
		peu (~4)
		intermédiaire
		beaucoup (~15)
		très grand nombre (>20)
	Hauteur à la floraison	mesure (cm)
FLEUR	Nombre de jours avant floraison	nombre de jours
	Couleur prédominante	indiquer la couleur

Les observations des plantes F1 montrent une hétérogénéité interlignée. Les plants porteurs du matériel génétique E2 présentent un caractère épineux très développé sur feuilles et calyx. La couleur des fleurs est très diverses selon le croisement : de mauve très clair, presque blanc violacé.

2.2 - Obtention des individus BC1F1

Le premier back-cross (BC1) a été initié en 2011 (semis et plantation) et se poursuit en 2012 (rétrocroisement, récolte des graines puis test de résistance au flétrissement bactérien).

3. CALENDRIER DES TRAVAUX POUR 2012 ET 2013

Pour les années suivantes, il est prévu de poursuivre le programme d'amélioration variétale d'aubergine résistante au flétrissement bactérien. Les travaux s'effectueront toujours en collaboration avec le CIRAD (figure 4).

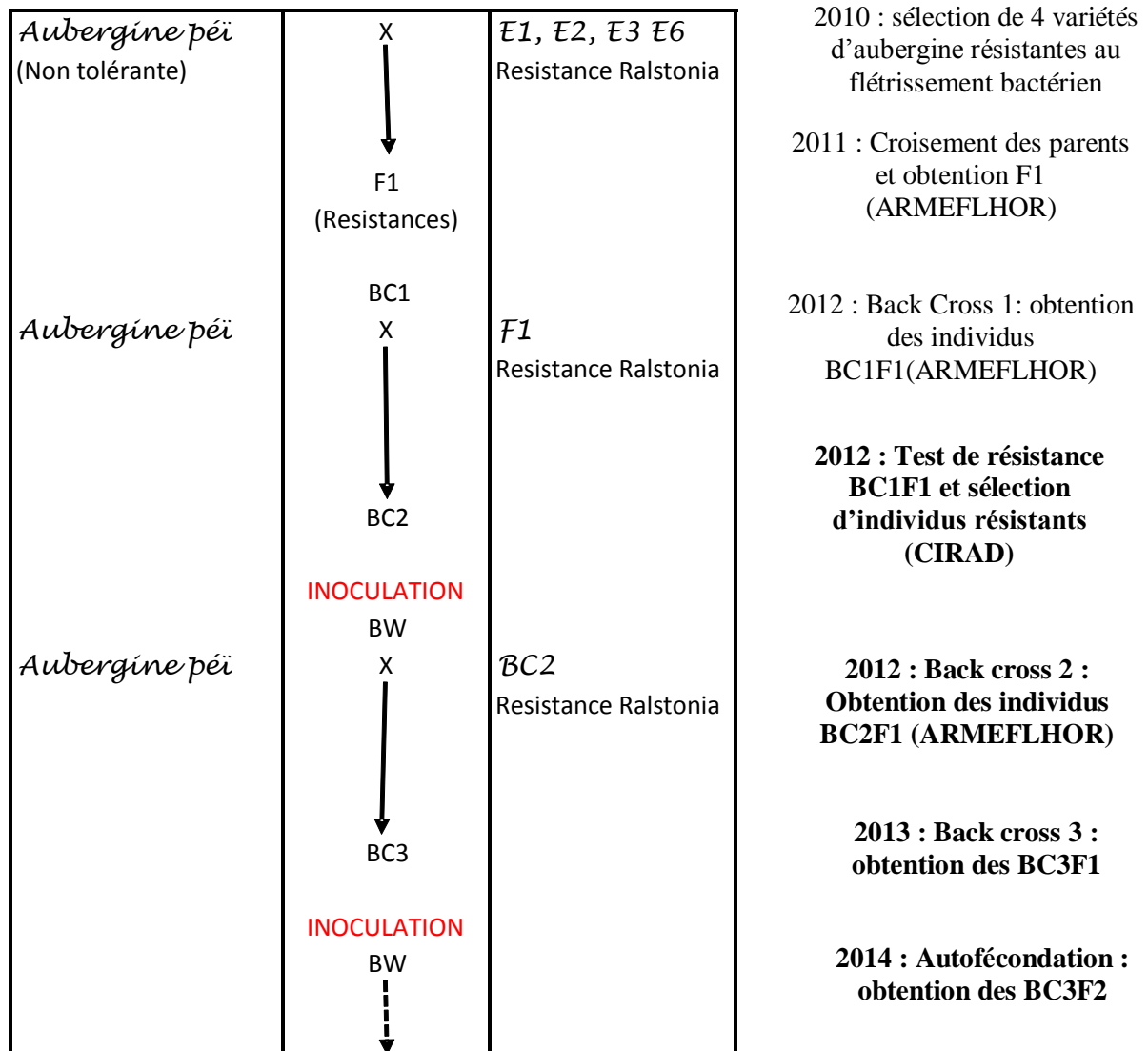


Figure 4 : Schéma de création variétale d'aubergine résistance au flétrissement bactérien et calendrier des travaux pour 2012-2014

4. RESULTATS ATTENDUS

Les individus attendus sont au minimum une version du BC3 de la bringelle péi (ronde ou saucisse) portant le gène de résistance *Ers-1*, suivi de la production des semences pour les premiers tests de comportements en production.