

# DES LABORATOIRES DE POINTE AU SERVICE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ENVIRONNEMENT

*Orstom Actualités a consacré le dossier central de son n°37 aux serres tropicales de Montpellier. Cet outil scientifique à la pointe des technologies de reconstitution des climats est au service de plusieurs laboratoires : "Ressources génétiques et améliorations des plantes tropicales", "Phytopathologie", "Sols cultivés". Ceux-ci sont le lieu de développement de programmes liés à des thèmes prioritaires de l'Orstom, tels que la diversité biologique et l'étude des écosystèmes sous culture. Nous présenterons ici les deux premiers laboratoires. Celui des sols cultivés fera l'objet d'un article dans le prochain numéro.*

**ORSTOM**

Actualités N° 38

Réchauffement de matériel  
sortant de cryoconservation.  
Photo : LRGAPT/Orstom



## LE LABORATOIRE DE "RESSOURCES GÉNÉTIQUES ET AMÉLIORATION DES PLANTES TROPICALES"

La création de ce laboratoire a été l'occasion d'associer, au sein d'une même unité, une équipe de physiologistes spécialisés dans l'embryogenèse somatique\* et une équipe de généticiens spécialisés en amélioration des plantes et en ressources génétiques. Ce laboratoire constitue la base métropolitaine de l'unité de recherche "Bases biologiques de l'amélioration des plantes" du département "Milieux et Activité Agricole" de l'Orstom.

### ESTIMATION ET UTILISATION DE LA DIVERSITÉ GÉNÉTIQUE

La diversité génétique peut se définir comme l'ensemble des génotypes\* présents dans un ensemble taxinomique ou éco-géographique donné (espèce, population, variété, champ).

L'étude de la diversité des ressources génétiques est très importante, car les plantes cultivées ont été domestiquées à partir d'espèces sauvages qui représentent un potentiel important de variabilité génétique (caractéristiques biologiques originales, adaptations à des milieux écologiques particuliers; résistances à des ravageurs). Cette variabilité est encore présente pour une bonne part dans les variétés traditionnelles, mais devient très réduite dans les variétés améliorées issues de la sélection moderne.

A côté de l'évaluation agronomique qui peut identifier directement de nouvelles sources de gènes\* intéressants, l'étude de la diversité révélée par les marqueurs moléculaires (polymorphisme isozymique\*, polymorphisme des longueurs des fragments de restriction de l'ADN\*) permet d'estimer, de manière neutre vis-à-vis de la sélection, l'ampleur et la nature de la diversité génétique. Il est facile par exemple, d'identifier grâce aux marqueurs moléculaires les groupes de variétés *indica* et *japonica* chez le riz cultivé asiatique *Oryza sativa* alors que les caractéristiques morphologiques seules entraînent des confusions.

L'analyse de la diversité génétique comprend également les espèces éloignées qui peuvent être séparées des espèces cultivées par des barrières reproductives très fortes; les marqueurs moléculaires permettent alors de mesurer les échanges génétiques naturels entre espèces sauvages apparentées et espèces cultivées et de clarifier les relations génétiques dans tout un groupe d'espèces. On peut ensuite mieux définir les modalités de la conservation de cette diversité : stratégie de collecte et conservation *in situ* en milieu naturel

*Microbouture de caféier (vitrothèque)*  
Photo : LRGAPT/Orstom.



pour les espèces sauvages ; optimisation des banques de gènes des espèces cultivées par réduction du nombre d'échantillons garantissant cependant une variabilité élevée.

En amélioration des plantes, la connaissance de l'organisation de la diversité génétique permet d'orienter les programmes de croisements. A l'avenir, le développement de cartes génétiques comportant de très nombreux marqueurs permet d'envisager l'analyse au niveau moléculaire de la diversité d'intérêt agronomique et d'exploiter plus efficacement les ressources génétiques en amélioration des plantes.

### **RÉGÉNÉRATION CONFORME ET MULTIPLICATION IN VITRO**

L'étude et l'utilisation de l'embryogenèse somatique comme mode de régénération et de propagation de plantes sélectionnées pour leurs caractéristiques particulières représentent une part importante des activités du laboratoire.

En théorie, chez les plantes supérieures, des cellules provenant d'organes variés comme des embryons, des tissus maternels de la graine, des racines, des feuilles ou des inflorescences, peuvent se développer en plante entière en suivant toutes les étapes du développement embryonnaire. Ce phénomène que l'on appelle embryogenèse somatique a été obtenu sur un très grand nombre d'espèces depuis une trentaine d'années grâce au développement des techniques de culture de tissus *in vitro*. La démarche générale consiste, à partir de fragments d'organes isolés placés aseptiquement sur un milieu de culture adapté, à obtenir une multiplication cellulaire conduisant à la formation d'amas de cellules indifférenciées appelés cals. Puis, une différenciation cellulaire permettant la production d'embryons somatiques est induite, soit directement sur les cals, soit sur des suspensions cellulaires issues de ces cals et cultivées en milieu liquide. Les embryons somatiques se développent ensuite en jeunes plantes jusqu'à un stade qui permet le transfert en sol dans des conditions environnementales strictes (phytotron ou serres adaptées). En l'absence de toute perturbation dans le patrimoine génétique et de son mode d'expression survenant pendant ces différentes étapes, on considère que toutes les plantes produites sont strictement identiques à celle qui a fourni l'organe de départ.

Cette technique présente plusieurs avantages : comme toute méthode de multiplication végétative, elle permet la multiplication conforme des génotypes intéressants dans le cas d'espèces où le mode naturel de reproduction ne le permet pas facilement (plante allogame à re-

production strictement sexuée). De plus, la puissance de cette technique est considérable, avec le développement de l'embryogenèse à partir de suspensions cellulaires, on peut envisager la multiplication à très grande échelle. A titre d'exemple, 1 litre de suspension de carotte peut fournir 900 000 embryons en 15 jours; 400 000 pour le caféier en 2 mois. Par ailleurs, la possibilité de régénérer des plantes entières à partir d'embryons somatiques de petite taille a permis de développer des banques de génotypes sous forme d'embryons somatiques congelés dans l'azote liquide, ce qui ouvre de nouvelles voies pour la conservation des ressources génétiques. Enfin, la possibilité de régénérer une plante entière à partir de quelques cellules fait de l'embryogenèse somatique un outil de choix pour l'obtention de plantes transformées par manipulations génétiques.

Les recherches réalisées au laboratoire de Montpellier portent sur l'embryogenèse somatique du palmier à huile et du cocotier, d'une part, et du manioc, d'autre part.

Dans le cas des deux palmacées oléagineuses, les travaux sont réalisés en étroite collaboration avec le Cirad-CP, ce qui se concrétise par l'accueil de chercheurs et de techniciens de cet organisme dans le laboratoire. Ils ont pour objectif de définir les conditions d'obtention de l'embryogenèse somatique permettant la production conforme et à grande échelle de clones d'individus sélectionnés pour leurs performances dans les programmes d'amélioration génétique. En ce qui concerne le manioc, la régénération par embryogenèse somatique est le passage obligé des programmes de transformation génétique ayant pour objet la résistance aux viroses. Il s'agit donc, dans un premier temps, de mettre au point les conditions de régénération, en testant la méthode sur des variétés ayant donné des résultats positifs dans d'autres laboratoires, et ensuite d'étendre cette technique à celles cultivées en Afrique.

### **CONSERVATION À LONG TERME DES RESSOURCES GÉNÉTIQUES**

Si beaucoup d'espèces peuvent être conservées sous forme de graines pendant des durées importantes, de nombreuses plantes tropicales (palmier à huile, cocotier, caféier) ont des graines dont la durée de vie ne dépasse pas quelques semaines à quelques mois. Ces espèces doivent être conservées sous forme de collections d'arbres en champ qui couvrent des surfaces importantes. Leur entretien est coûteux et les plantes restent soumises aux aléas climatiques et aux maladies. Le même problème se pose pour des espèces propagées par voie végétative telles que le manioc ou l'igname.

Pour assurer la conservation de ces espèces dans de bonnes conditions, les techniques de culture *in vitro* présentent de nombreux avantages : les plantes sont miniaturisées et peuvent être conservées dans un espace réduit, en conditions stériles. Le coût d'entretien de collections *in vitro* ou "vitrothèques" est considérablement diminué par rapport aux collections en champ. Suivant la durée de conservation recherchée, les techniques utilisées sont différentes : pour un stockage à moyen terme (quelques mois à quelques années), on cherche à ralentir la croissance du matériel en modifiant divers paramètres (température, milieu de culture). Pour une conservation à long terme (plusieurs dizaines d'années), on cherche à bloquer la croissance des échantillons. On utilise pour cela les techniques de cryoconservation, c'est-à-dire le stockage à très basse température, généralement celle de l'azote liquide, -196° C. A cette température, toutes les divisions cellulaires sont arrêtées et le matériel peut être stocké sans altération pendant des durées prolongées.

Les recherches réalisées en conservation *in vitro* au laboratoire concernent la mise au point et le développement de différentes techniques de conservation pour plusieurs espèces, principalement tropicales. Ainsi, le laboratoire a la responsabilité de vitrothèques de caféier, de manioc et d'igname qui sont entretenues en vie ralentie. Les techniques de cryoconservation ont été mises au point au laboratoire sur le palmier à huile, le cocotier, le manioc, le caféier, le palmier dattier, la vigne, la canne à sucre, le bananier et le *citrus*. Ces recherches sont souvent réalisées en collaboration avec des instituts de recherche français (Cirad) ou étrangers (Côte-d'Ivoire, Costa Rica, Cuba) dans le cadre de programmes financés par des organismes internationaux (FAO, IPGRI).

Une part importante des activités concerne l'application des techniques mises au point au laboratoire. Ainsi, dans le cas du palmier à huile, la cryoconservation des embryons somatiques est expérimentée à grande échelle en Côte-d'Ivoire, Indonésie et Malaisie, ce qui représente le premier exemple d'utilisation de la cryoconservation à un tel niveau. Un programme similaire devrait démarrer dans les prochains mois sur le cocotier.

### **SÉLECTION DES GÉNOTYPES ET OPTIMISATION DES COLLECTIONS**

La prise de conscience de l'importance des ressources phyto-génétiques a conduit dans un premier temps à de nombreuses collectes de formes cultivées et spontanées le plus souvent de plantes à graines de type orthodoxe. La conservation de milliers d'échantillons peu documentés ne



permet pas de répondre efficacement à une quelconque demande. Suite aux problèmes rencontrés pour la gestion et la conservation des collections de plantes, le concept de "collection représentative" ou "core collection"\* a été introduit. Deux objectifs majeurs justifient cette proposition: optimiser la gestion des ressources phylogénétiques et améliorer leur valorisation au niveau des utilisateurs. Créer une "core collection" revient à rechercher un sous-ensemble qui représente la diversité génétique d'une espèce cultivée et de ses apparentées sauvages. Mais dès lors que tout échantillonnage est responsable de la perte d'une partie de la variabilité, cette collection doit tenter de représenter correctement les principales composantes de la diversité en respectant la structure génétique des espèces. Le choix des individus à conserver constitue donc une étape capitale pour mettre en pratique ce concept : sur quels critères doit-on les sélectionner ? Combien de génotypes faut-il conserver ? Les critères à prendre en compte se résument à des prises de décision à trois niveaux : représentation de la diversité génétique, adéquation aux besoins, flexibilité.

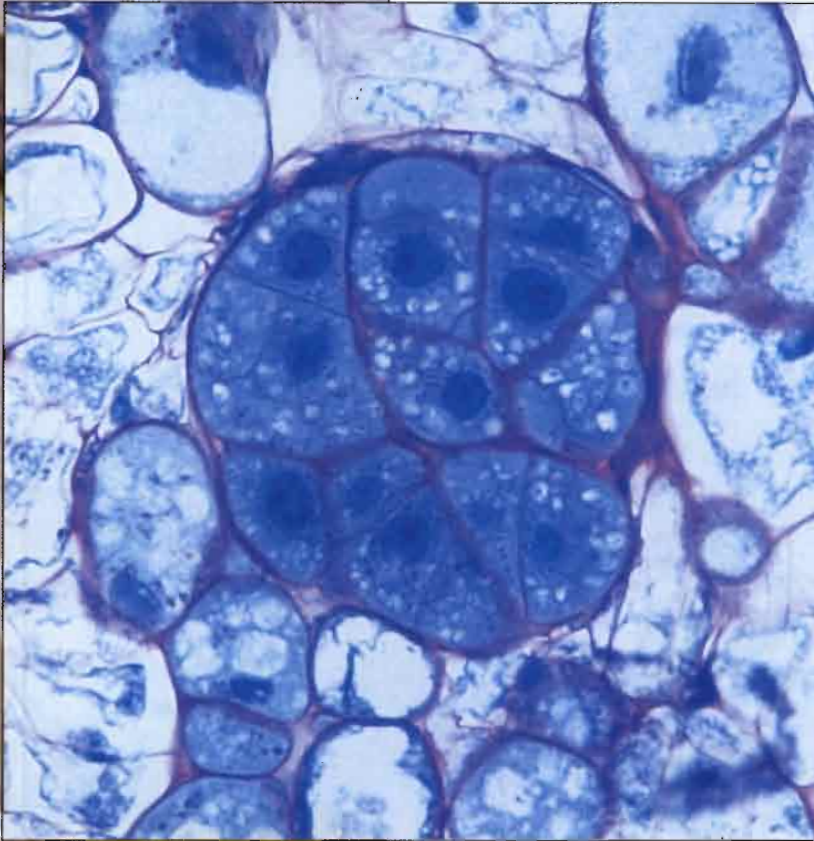
Aujourd'hui, le débat auquel notre équipe contribue activement, consiste à formaliser les différentes approches possibles. En d'autres termes, il faut rechercher le meilleur compromis entre des informations obtenues à partir d'évaluations réalisées avec des marqueurs

*Analyse de la diversité génétique  
Unité de marqueurs moléculaires  
Photo : LRGAPT/Orstom*

*Exemple d'une collection en champ de Coffea arabica : station d'altitude de Man au nord-ouest de la Côte-d'Ivoire (environ 1000 m).  
Photo : LRGAPT/Orstom*







*Formation d'un proembryon au sein d'un cal embryogène de cocotier  
Photo : LRGAP/Orstom*

neutres (isoenzymes-RFLP) ou soumis à la sélection naturelle (modes de reproduction). Le complexe des caféiers nous sert de modèle pour cette étude mais on peut envisager de nombreuses applications à d'autres plantes dont celles à graines récalcitrantes telles que hévéas, cacaoyers et manguiers ■

Y. Duval - F. Engelmann  
A. Ghesquière - S. Hamon - A. Rival  
Département "Milieux et activité agricole" - UR "Bases biologiques de l'amélioration des plantes tropicales"

### **Glossaire**

**Core collection** : collection sensée contenir le plus de diversité possible, sans double, et d'une taille modeste (Maximum 3 000 génotypes).

**Embryogenèse somatique** : processus permettant de régénérer à partir d'une cellule somatique une structure morphologique organisée comparable à un embryon zygotique.

**Explant** : fragment d'organe en culture  
**Gène** : séquence de l'ADN (acide désoxyribonucléique) sur un chromosome et constituant une unité d'information génétique.

**Génotype** : au sein du génome, ensemble des gènes d'un individu révélés par une analyse génétique ou moléculaire, qu'ils s'expriment ou non.

**Phytohormone endogène** : hormone végétale ayant un rôle dans la croissance ou le développement d'une plante.

**Polymorphisme isozymique** : variabilité obtenue par les produits protéiques (enzymes) de l'ADN.

**Polymorphisme de longueur des fragments de restriction de l'ADN** : polymorphisme révélé par la taille des fragments de l'ADN coupés par des enzymes de restriction.

### **Gestion de collections et bases de données**

De nos jours, un système performant de stockage des informations et de leur traitement est indispensable pour utiliser de manière rationnelle les ressources génétiques. Le laboratoire a développé plusieurs bases de données dont la plus importante, BASECAFÉ, fut conçue pour le CRG (Centre de Ressources Génétiques) des caféiers africains en Côte-d'Ivoire. Ce CRG qui comprend deux stations de conservation (en altitude et en plaine), détient des collections d'intérêt mondial, riches de 8 000 individus sauvages, représentant une vingtaine d'espèces, provenant de huit pays d'Afrique.

BASECAFÉ contient plus de 120 000 données élémentaires réparties dans 62 fichiers auxquels sont associés 120 fichiers-index pour accélérer la recherche des informations. Les données du passeport (origine et mise en collection) de tous les individus ont été saisies et leur utilisation depuis une dizaine d'années a contribué à améliorer la fiabilité des fichiers correspondants. De l'évaluation génétique commencée en 1966, nous avons retenu les descripteurs les plus utilisés. Ils ont trait à la morphologie des caféiers, aux marqueurs génétiques tels que les isozymes, à l'intensité des floraisons, à la production des arbres, à leur fertilité et aux caractéristiques technologiques et biochimiques des grains. La programmation des applications est en cours d'achèvement. On peut déjà éditer le passeport des individus, effectuer une sélection à partir des données du passeport, gérer les remplacements à entreprendre chaque année et imprimer le plan d'une parcelle en utilisant n'importe quelle information enregistrée dans la base. Le schéma conceptuel de BASECAFÉ peut servir de modèle pour construire d'autres bases de données appliquées à la gestion et à l'évaluation des ressources génétiques.

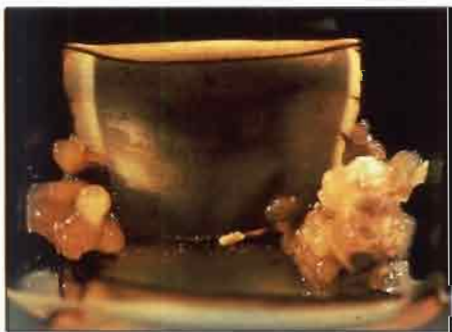
Contact : F. Anthony



### Quelques résultats

Sur le palmier à huile, les premiers résultats positifs obtenus au cours des années 70 ont été approfondis, et un transfert de technologie a été réalisé dans plusieurs laboratoires de pré-développement, en Côte-d'Ivoire, en Malaisie et en Indonésie. A l'heure actuelle, plus d'un million de vitroplants ont été produits par cette méthode, 2500 hectares sont plantés et les recherches au niveau du développement industriel se poursuivent. Les premiers résultats observés au champ montrent un accroissement moyen de la production d'huile de l'ordre de 11 %, avec pour certains clones jusqu'à 30 % de gain par rapport aux meilleurs hybrides. Par effet de retour, un certain nombre de problèmes posés par ce changement d'échelle ont émergé et sont maintenant étudiés à Montpellier, comme le contrôle de la conformité du matériel produit par la recherche et l'étude de marqueurs ou l'approfondissement de la physiologie des vitroplants en condition *in vitro* et lors du transfert en condition *ex vitro*. Enfin, des travaux plus prospectifs, qui portent sur le phénomène d'embryogenèse à partir de suspensions cellulaires en milieu liquide ont permis de produire des vitroplants qui sont en cours d'évaluation. Ces techniques permettent d'envisager un saut technologique avec l'utilisation de bioréacteurs et la production de masse de matériel clonal à des coûts très faibles, ce qui permettra d'assurer des débouchés plus larges à ces plantes performantes.

Contact : Y. Duval



Cal sur explant foliaire (palmier à huile)  
Photo : LRGAPT/Orstom

Sur le cocotier, le programme de recherche est développé au laboratoire depuis une dizaine d'années. Ce travail entrepris à partir d'explants\* foliaires et inflorescenciels se présente sous deux aspects :

- finalisé avec la mise au point d'un procédé de multiplication végétative qui sera mis à la disposition des sélectionneurs et des producteurs de matériel végétal. Ces recherches ont permis de franchir une étape importante et d'obtenir de manière reproductible des vitroplants sur cinq clones appartenant à des géotypes différents;



Noix de palme (fruit du palmier à huile). Photo : LRGAPT/Orstom

- fondamental lié à la difficulté de régénération de cette espèce ; il fait intervenir une approche analytique plus fine avec un contrôle histologique des tissus, le dosage des éléments du milieu et l'analyse des phytohormones endogènes\* aux différentes étapes-clés du phénomène. Actuellement, les travaux s'orientent vers la mise au point de milieux favorisant la prolifération des embryons somatiques de façon à assurer la production en masse de vitroplants.

Contact : J. Buffard-Morel et J.L. Verdeil

### Pour en savoir plus

Anthony F. (1991). Les ressources génétiques des caféiers : collecte, gestion d'un conservatoire et évaluation de la diversité génétique. Editions de l'Orstom, TDM n° 81. 320 p.

Bertrand-Desbrusnais A., Noirot M., Charrier A. (1991). Minimal growth in vitro conservation of coffee (*Coffea* spp.) - 1. Influence of 6-benzyladenine. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27 : 333-339.

Besse, I., Verdeil J.L., Duval Y., Sotta B.,

Migniac E. (1992) - Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) Clonal Fidelity : Endogenous cytokinins and indoleacetic acid in embryogenic callus culture. J. Experimental Botany, vol. 43, n° 252 : 983-989.

Buffard-Morel J., Verdeil J.L., Pannetier C. (1992). Embryogenèse somatique du cocotier (*Cocos nucifera* L.) à partir d'explants foliaires : étude histologique. Can. J. of Botany 70 : 735-741.

Charrier A., Hamon S. (1991). Germplasm collection, conservation and utilization at Orstom. In : Crop Genetic Resources of Africa. Ed N.Q. Ng, Perrino P., Attere F., Zedam H. vol. 2 : 41-52.

Engelmann F. (1991). *In vitro* conservation of tropical plant germplasm. A review. Euphytica 57 : 227-243.

Hamon S., Charrier A., Hoechlin J., Von Sloten D.H. (1991). Les apports potentiels à l'amélioration génétique des gombos (*Abelmoschus* spp.) par l'étude de leurs ressources génétiques. Plant Genet. Resources Newsl. FAO/IBPGR 86 : 9-16

Marmey Ph. Besse I., Verdeil J.L. (1991). Mise en évidence d'un marqueur protéique différenciant deux types de cals





à disposition d'un "pool génétique" dans lequel on pourra puiser à des fins d'amélioration ou de création variétales. Encore faudra-t-il éviter que la création et l'amélioration ne conduisent à la production de variétés sensibles aux parasites.

C'est pourquoi, il est indispensable de connaître la biologie de ces derniers, leur diversité génétique et pathogénique, leur capacité d'évolution et d'adaptation à des variétés nouvelles, de même que, réciproquement, il est nécessaire de déterminer les facteurs de résistance chez les plantes.

C'est dans ce contexte général que se situent les activités du Laboratoire de phytopathologie du Centre Orstom de Montpellier.

### **Fusariose, verticilliose et autres maladies**

Ce laboratoire a orienté ses travaux vers l'étude des maladies vasculaires de plantes tropicales. Celles-ci sont provoquées par des agents pathogènes qui se localisent et prolifèrent dans les vaisseaux des plantes et induisent des symptômes dont le plus typique est le flétrissement généralisé. Cette thématique est actuellement abordée avec, pour support, des maladies provoquées par les champignons pathogènes *Fusarium oxysporum* et *Verticillium dahliae* sur le cotonnier (fusariose et verticilliose), le palmier à huile (fusariose) et le palmier dattier (fusariose, connue en Afrique du Nord sous le nom de bayoud). Deux orientations font l'objet de recherches approfondies :

- la diversité génétique au sein des populations de ces agents pathogènes, l'existence de races et leur distribution géographique;
- les relations hôte-parasite et, plus particulièrement, les défenses de nature mécanique ou chimique mises en place par la plante hôte face à l'agression parasitaire.

L'un des aspects de la diversité génétique concerne le pouvoir pathogène. Pour certaines maladies (fusariose du cotonnier, par exemple), les races du parasite ne sont capables d'attaquer une espèce ou

une variété déterminées que si leur génome contient les "facteurs de virulence" capables de surmonter les "facteurs de résistance" correspondants chez la plante. Or, ces "facteurs de virulence" ne sont pas toujours distribués de manière homogène dans les populations d'agents pathogènes; ainsi, une variété sélectionnée pour la résistance à un parasite dans une région géographique déterminée peut s'avérer sensible à ce même parasite lorsqu'elle est cultivée dans une autre région. Il est donc indispensable, à la fois pour sélectionner des variétés résistantes et pour les utiliser rationnellement, de caractériser le pouvoir pathogène des parasites et d'en vérifier la distribution au niveau mondial.

L'étude du pouvoir pathogène nécessite la mise au point de techniques d'infection expérimentale. Les variétés de plantes utilisées pour déterminer les races (virulence) ou pour tester le niveau du pouvoir pathogène (agressivité) des parasites, sont cultivées en serre, dans des conditions de climat tropical humide (28°C - 90% d'hygrométrie) pour le palmier à huile, de climat tropical sec (27°C - 50% d'hygrométrie) pour le cotonnier ou de climat subdésertique (35°C jour - 20°C nuit - 50% d'hygrométrie) pour le palmier dattier. L'infection artificielle est effectuée sur de jeunes plants, issus de semis ou de cultures *in vitro*, par trempage de leur racines dans une suspension de spores du champignon parasite. Les symptômes sont appréciés deux semaines après infection pour le cotonnier, trois à six mois après infection pour les palmiers.

### **Des résultats prometteurs**

La situation géographique de Montpellier permet de rassembler sans danger des collections de champignons agents de maladies vasculaires dans les régions tropicales humides, il est évidemment exclu de constituer de telles collections dans leurs zones d'origine en raison du risque qu'elles présenteraient localement pour les cultures. Il convient cependant, de prendre des précautions complémentaires dans le cas de parasites capables

issus de mêmes clones chez le palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) C.R.Acad. Sci. Paris, t. 313 - Série III : 333-338.

Noirrot M. (1991). Evidence for periodic component in the heading in a tropical grass : *Panicum maximum* Jacq. Acta Oecologica, 12 : 809-817.

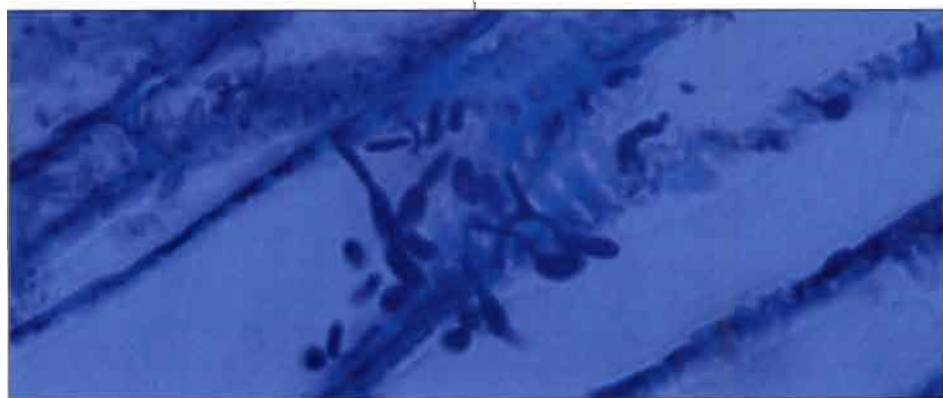
Tostain S. (1992). Enzyme diversity in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) : 3. Wild millet. Theor. Appl. Genet, 83 : 733-742.

Touchet B., Duval Y., Pannetier C. (1991). Plant regeneration from embryogenic suspension cultures of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Plant Cell Reports, 10 : 529-523.

Verdeil, J.L., Huet C., Grosdemange F., Rival A., Buffard-Morel J. (1992) - Embryogenèse somatique du cocotier (*Cocos nucifera* L.) : obtention de plusieurs clones de citroplants. Oléagineux, 47(7) : 463-467.

### **LE LABORATOIRE DE PHYTOPATHOLOGIE**

La conservation génétique n'est pas un but en soi mais doit conduire à la mise



Présence de spores dans des cellules du système vasculaire d'un plant de cotonnier infecté par *Verticillium dahliae* - Photo : Fouad Daayf

de provoquer des maladies sur les plantes cultivées dans les régions méditerranéennes. C'est pourquoi, des aménagements spécifiques ont été réalisés dans les compartiments réservés à la pathologie végétale afin que les meilleures conditions de sécurité soient assurées même si la dispersion des champignons agents de maladies vasculaires tels que *Fusarium* et *Verticillium* est pratiquement impossible par voie aérienne; ces maladies sont généralement introduites par du matériel végétal contaminé tel que semences et boutures ...

Ainsi les conditions favorables à Montpellier ont permis de réunir des collections de *F. oxysporum* agents de la fusariose du cotonnier et du palmier à huile ainsi que du *Verticillium*, responsable de la verticilliose du cotonnier, venant de l'ensemble des régions où ces parasites sévissent\*. Les souches sont utilisées pour infecter artificiellement les plantes-hôtes correspondantes afin de déterminer d'éventuelles différences de pouvoir pathogène au sein des collections. D'autre part, dans le cas de *F. oxysporum* forme spécialisée *vasinfectum*, parasite du cotonnier, trois espèces de cette plante sont infectées dans le but de mettre en évidence l'existence de races chez le champignon.

L'étude de la diversité des agents pathogènes est complétée, en laboratoire, par des approches plus fondamentales mettant en oeuvre d'autres techniques : compatibilité végétative, polymorphisme enzymatique et polymorphisme génomique (ADN nucléaire et mitochondrial). La structure des populations ainsi déterminée est comparée à celle issue de l'étude de la diversité du pouvoir pathogène. Ces recherches ont pour but de mettre au point des méthodes d'identification rapide, notamment de races et de pathotypes\*\*, fondées sur l'appartenance à des groupes de compatibilité végétative, ou sur des profils enzymatiques, ou sur des profils de restriction génomique caractéristiques. Dans ce cadre, une avancée scientifique et technique significative résiderait dans la mise au point de sondes moléculaires spécifiques dont la simplicité et la rapidité d'utilisation permettraient de s'affranchir, au moins partiellement, des techniques d'infection expérimentale. D'ores et déjà des résultats prometteurs ont été enregistrés.

Enfin, le laboratoire effectue des recherches sur les mécanismes de défense mis en place par la plante en réponse à l'agression parasitaire. Ces études nécessitent l'extraction, à partir de quantités importantes de matériel végétal sain et contaminé, de molécules présumées actives telles que les PR-protéines ou les phytoalexines. Les serres sont éga-

lement utilisées pour la production des plantes indispensables à la réalisation de ces recherches ■

Jean-Paul Geiger

Département Milieux et Activité Agricole UR "Parasites et ravageurs en relation avec la plante et le milieu"

\* Ces collections ont pu être constituées grâce aux collaborations établies avec des chercheurs du CIRAD-CA (ex-IRCT) et du CIRAD-CP (ex-IRHO), des chercheurs ou des stagiaires de l'INRA-Algérie et de l'INRA-Maroc, et, enfin, grâce à un réseau de correspondants scientifiques : Belgique, Bénin, CEI (ex-URSS), Chine, Côte-d'Ivoire, Egypte, Espagne, Grande-Bretagne, Inde, Israël, Maroc, Nigeria, USA, Soudan, Tanzanie.  
\*\* Ensemble de souches ayant des pouvoirs pathogènes bien caractéristiques.

#### Pour en savoir plus

Assigbetse K., Dossa C., Pando-Bahuon A., Boisson C., 1991 - Vegetative compatibility in two *formae speciales* of *Fusarium oxysporum*. Congress of the British Society of Plant Pathology, Swansea, 16-18 April.

Dossa C., Pando-Bahuon A., Renard J.L. et Boisson C., 1991 - Détermination des groupes de compatibilité végétative chez des souches africaines de *Fusarium oxysporum*. isolées de palmiers à huile fusariés. Oléagineux, 46 : 145-147.

Pando-Bahuon A., Fernandez D., Dossa C. and Geiger J.P., 1991 - Isoenzyme and DNA polymorphism in *Fusarium oxysporum*. f. sp. *elaedis* population. Proc. Congress of the British

Society of Plant Pathology "Vascular Pathogens" Swansea. 16-18 April.  
Tantaoui A. et Boisson C., 1991 - compatibilité végétative d'isolats du *Fusarium oxysporum*. f. sp. *albedinis* et de *Fusarium oxysporum*. de la rhizosphère du palmier dattier et des sols de palmeraies. Phytopath. medit., 30, 155-163.

Nicole M., Geiger J.P., Nandris D., 1992 - Mechanisms of defense of angiosperm roots to fungal invasion. In "Defense mechanisms of woody plants against fungi", R.A. Blanchette and A. R. Biggs Ed.; Springer Verlag, New York, Heidelberg; ch 10 : 181-206.

Daayf F., Pando Bahuon A., Geiger J.P., 1992 - Pathogenic variability of *Verticillium dahliae* on cotton ; use of virulence stable hyalin clones to investigate host reaction. 2nd EFPP Conference, Strasbourg : 24-27 août 92.

Fernandez D., Assigbetse K., 1992 - Analyse de la diversité génétique chez *Fusarium oxysporum*. f. sp. *vasinfectum* par RFLP et RAPD. 3<sup>ème</sup> Congrès SFM, Lyon 21-24 août 92.

Berthier Y., Verdier V., Guesdon J. L., Lemattre M., 1992 - Characterisation of *Xanthomonas campestris* pathovars by RNA gene restriction patterns. "8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria", Versailles ; 9-12 juin 92.

Verdier V., Berthier Y., Dongo P., Chevrier D., Boher B., 1992 - Molecular epidemiology of *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* causal agent of Cassava bacterial blight. "8th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria", Versailles ; 9-12 juin 1992.

## Leading edge laboratories for agriculture and environment

The work of the "Tropical plant breeding and genetic resources" laboratory includes (a) estimation and use of genetic diversity, (b) tissue culture, *in vitro* multiplication and somatic embryogenesis as ways of regenerating and reproducing identical plants, (c) long term conservation of genetic resources, (d) selecting genotypes, optimizing and managing plant collections and databases. Best results have been achieved with the oil palm (over a million plants produced *in vitro*) and coconut palm

(a particularly difficult species to regenerate). The "Plant Health" laboratory is also concerned with conserving genetic resources and developing new and improved varieties from a "gene pool". Since new varieties must be resistant to parasites and diseases, the laboratory works on the biology of parasites, their genetic and pathogenic diversity, their adaptation to new varieties, and resistance factors in the plant. Promising results have been achieved with pathogenic fungi such as *Fusarium* and *Verticillium*.



Duval Yves, Engelmann Florent, Ghesquière Alain, Hamon Serge, Rival Alain, Geiger Jean-Paul

Les laboratoires de pointe au service de l'agriculture et de l'environnement

ORSTOM Actualités, 1993, (38), p. 11-18. ISSN 0758-833-X