

Biotechnologies appliquées chez l'aubergine

C. Collonnier¹ F. Vedel²
J. Fock¹ G. Ducreux¹
Y. Lian¹ D. Sihachakr¹
A. Servaes¹

Introduction

L'aubergine (*Solanum melongena* L.), aussi connue sous les noms d'« eggplant », de « brinjal » ou de « Guinea squash », est le septième légume le plus consommé au monde (FAO, 1989). Elle est d'une importance économique considérable en Asie, en Afrique et dans les régions subtropicales (Inde, Amérique centrale), mais est aussi cultivée dans certaines régions tempérées comme la zone méditerranéenne et le sud des États-Unis (Sihachakr *et al.*, 1993).

Plus faible que celle de la tomate, sa valeur nutritionnelle est cependant comparable à celles des autres légumes (Grubben, 1977). Son poids frais se compose de 92,7 % d'eau, de 1,4 % de protéines, de 1,3 % de fibres, de 0,3 % de lipides, de 0,3 % de sels minéraux, les 4 % restant regroupant d'autres carbohydrates et des vitamines (A et C) (Khan, 1979).

¹ Morphogenèse végétale expérimentale, bât. 360, université Paris Sud, 91405 Orsay cedex, France.

² Institut de biotechnologies des plantes, CNRS-UMR 8618, bât. 630, université Paris Sud, 91405 Orsay cedex, France.

L'aubergine est sensible à de nombreuses maladies et parasites, en particulier à des flétrissements bactérien (*Ralstonia*) et fongiques (*Fusarium*, *Verticillium*), aux nématodes et à certains insectes (Sihachakr *et al.*, 1994). Elle présente des résistances partielles à la plupart de ces pathogènes mais souvent à des niveaux insuffisants (Messiaen, 1989 ; Daunay *et al.*, 1991). L'introduction de gènes de résistance est donc, avec l'amélioration du rendement et de la qualité du fruit, un des objectifs principaux de la sélection traditionnelle et des biotechnologies.

Des expériences de croisement entre l'aubergine et ses espèces apparentées ont été réalisées et des techniques, comme l'exploitation de la variation somaclonale et le transfert de gènes par hybridation somatique ou transformation génétique ont été explorées afin d'augmenter la variabilité existante.

Cette revue d'ensemble tente d'une part de condenser les informations disponibles sur les ressources génétiques de l'aubergine et leur utilisation potentielle dans les programmes de sélection, et d'autre part de faire un point sur l'état actuel des recherches en biotechnologies menées pour l'amélioration de cette espèce.

■ Ressources génétiques

Solanum melongena L. est une des espèces non-tubéreuses de la famille des Solanacées. Elle appartient à la sous-famille des *Solanoideae*, à la tribu des *Solaneae*, au genre *Solanum* et au sous-genre *Leptostemonum* (Dun) Bitt, qui comporte plus de 450 espèces distribuées en 22 sections (D'Arcy, 1972 ; Whalen, 1984). Des variétés primitives d'aubergine sont encore présentes en Asie, mais une érosion génétique importante, due à l'utilisation préférentielle de cultivars à haut rendement, a eu lieu en Indonésie, aux Philippines, en Thaïlande et en Malaisie (Grubben, 1977).

L'aubergine présente une grande variabilité morphologique (couleur, forme, et taille), physiologique et biochimique. Ses niveaux de résistance aux maladies sont eux-aussi très variés (Messiaen, 1989 ;

Daunay *et al.*, 1991). Des résistances au feu bactérien (*Ralstonia solanacearum*) et à l'antracnose des fruits (*Colletotrichum gloeosporioides*) ont été mises en évidence chez certaines variétés (Kaan, 1973 ; Rao *et al.*, 1976 ; Sitaramaiah *et al.*, 1985 ; Messiaen, 1989). Cependant pour les nématodes (*Meloidogyne* spp.), la verticilliose (*Verticillium dahliae*), la fusariose (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*), ainsi que le flétrissement dû à *Phomopsis vexans*, le niveau de résistance est insuffisant (Dhawan et Sethi, 1976 ; Nothman et Yepfet, 1979 ; Yamakawa et Mochizuki, 1979 ; Messiaen, 1989). Contre les insectes, comme *Leucinodes orbonalis*, *Amrasca biguttula*, *Aphis gossypii*, et *Epilachna viginti octopunctata*, l'aubergine montre seulement des tolérances (Raj et Kumaraswami, 1979 ; Bindra et Mahal, 1981 ; Chelliah et Srinivasan, 1983 ; Sambandam et Chelliah, 1983). Peu ou pas de tolérances ont été rapportées concernant d'autres parasites, insectes et mites (*Colletotrichum coccodes*, *Fusarium solani*, *Thrips palmi*, *Sclerotium rolfsii*, et *Tetranychus* spp) (Messiaen, 1989 ; Daunay *et al.*, 1991). En conséquence, développer des résistances fortes, voire totales, aux principales maladies de l'aubergine semble grandement nécessaire.

Des caractères de résistance aux maladies et aux stress environnementaux existent parmi les espèces du genre *Solanum* apparentées à l'aubergine. Comme le montrent les données du tableau 1, des résistances aux maladies les plus graves de *S. melongena* (flétrissements bactériens et fongiques, nématodes) ont été identifiées chez *S. sisymbriifolium* et *S. torvum* (Mochizuki et Yamakawa, 1979 ; Messiaen, 1989 ; Daunay *et al.*, 1991). D'autres résistances à *Phomopsis vexans* et *Leucinodes orbonalis* ont été rapportées chez *S. sisymbriifolium* et *S. khasianum* (Kalda *et al.*, 1977). *S. aethiopicum*, présente aussi quelques caractères de résistance intéressants contre *Leucinodes orbonalis*, *Ralstonia solanacearum* et *Fusarium oxysporum* (Daunay *et al.*, 1991 ; Ano *et al.*, 1991). En ce qui concerne les stress environnementaux, différentes résistances ont été mises à jour : résistance au froid chez *S. grandiflorum* Ruiz et Pavon, *S. mammosum* L. et *S. viarum* Dun. = *S. khasianum* Clarke (Baksh et Iqbal, 1979), résistance à la salinité chez *S. linnaeanum* Hepper et Jaeger, et résistance à la sécheresse chez *S. macrocarpon* L. (Daunay *et al.*, 1991).

Maladies ou dégâts causés par :	<i>S. viarum</i> Dun. = <i>S. khasianum</i>	<i>S. sisymbriifolium</i> Lam.	<i>S. aethiopicum</i> L.	<i>S. torvum</i> Sw.
Champignons :				
<i>Phomopsis vexans</i>	résistant	résistant	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	résistant	-
<i>Verticillium dahliae</i>	-	résistant	-	résistant
Bactéries :				
<i>Ralstonia solanacearum</i>	-	partiellement résistant	résistant	résistant
Insectes :				
<i>Leucinodes orbonalis</i>	résistant	-	résistant	-
<i>Epilachna vigintioctopunctata</i>	résistant	résistant	-	résistant
Nématodes :				
<i>Meloidogyne</i> spp	-	résistant	-	résistant

Tableau 1

Principales sources de résistance aux maladies et parasites de l'aubergine chez les espèces du genre *Solanum* qui lui sont apparentées (Daunay *et al.* 1991).

L'analyse biochimique et moléculaire de la diversité génétique chez l'aubergine a fait l'objet de quelques études fondées sur les isoenzymes (Karihaloo et Gottlieb, 1995) et les RAPDs (Karihaloo *et al.*, 1995). Une carte génétique partielle comprenant 94 loci, répartis en 13 groupes de liaison recouvrant 716,7 cM, a d'autre part été élaborée à partir de marqueurs RAPD sur 168 descendants F2 d'un croisement entre une lignée à fruits de qualité et une lignée résistante au feu bactérien (Nunome *et al.*, 1998). Une résistance à la bactérie a été associée à 2 de ces 13 groupes. Mais cette carte doit encore être enrichie de marqueurs codominants pour permettre une analyse QTL des résultats.

Afin d'étudier les relations phylogénétiques entre l'aubergine et ses espèces apparentées des analyses AFLP (Mace *et al.*, 1999) et d'ADN chloroplastique associant amplification PCR et enzymes de restriction (Sakata et Lester, 1994 ; Isshiki *et al.*, 1998) ont été menées. Ces résultats pourraient contribuer à la détermination de marqueurs de résistances utilisables dans le cadre de programmes SAM (Sélection assistée par marqueurs).

I Hybridation sexuée

Les techniques de sélection conventionnelle par croisements sexuels sont traditionnellement les premières à être utilisées pour introduire les caractères agronomiques utiles des espèces sauvages dans l'espèce cultivée. Ces dernières années, les sélectionneurs d'aubergine ont concentré leurs efforts sur l'obtention d'hybrides à fort rendement, produisant des fruits de bonne qualité et possédant des résistances aux maladies. Néanmoins, l'introduction de tels caractères par croisements interspécifiques entre *S. melongena* L. et d'autres espèces du genre *Solanum* a jusqu'ici été limitée par l'existence de barrières sexuelles.

Les capacités de croisement sexué de l'aubergine avec des espèces issues d'autres genres ou sous-genres sont très faibles (Daunay *et al.*, 1991). Cet état de fait pourrait s'expliquer par les divergences engendrées par l'évolution, connu sous le nom d'incongruité (Franklin *et al.*, 1995). Un croisement intergénérique a cependant été tenté entre *S. melongena* L., utilisé comme parent pollinisateur, et *Lycopersicon esculentum* (Rao, 1979), mais les hybrides obtenus étaient stériles.

S. melongena L. peut être croisée avec de nombreuses espèces du sous-genre *Leptostemonum* (Sihachakr *et al.*, 1994). Parmi les 19 espèces utilisées dans le monde pour améliorer l'aubergine, seulement 4 (*S. incanum*, *S. linneanum*, *S. macrocarpon* et *S. aethiopicum*, toutes de l'Ancien Monde) aboutissent après croisement à une descendance fertile à partir d'une F1 partiellement fertile (tabl. 2). Les 15 autres espèces donnent des hybrides partiellement fertiles ou pas d'hybrides du tout. Six sont issues de l'Ancien Monde (*S. campylacanthum* Hochst., *S. marginatum*, *S. pyracanthos* Lam., *S. tomentosum* L., *S. violaceum* Ort. et *S. virginianum*), 7 sont originaires d'Amérique du sud (*S. grandiflorum* Ruiz et Pavon, *S. hispidum*, *S. mammosum*, *S. sisymbriifolium*, *S. stramonifolium* Jacq., *S. torvum*, *S. viarum* or *khasianum*), et 2 proviennent d'Australie (*S. campanulatum* et *S. cinereum*) (Daunay et Lester, 1989). Les capacités de croisements de l'aubergine avec une espèce donnée peuvent varier selon la variété employée. Elles peuvent aussi dépendre du sens du croisement, révélant ainsi des incompatibilités unidirectionnelles (Rao, 1979).

Espèces du sous-genre <i>Leptostemonum</i>	Capacité de croisement avec <i>S. melongena</i>
Section <i>Melongena</i> :	
<i>S. incanum</i>	+++
<i>S. linnaeanum</i>	++
<i>S. macrocarpon</i>	++
<i>S. marginatum</i>	++
<i>S. melongena</i>	+++
<i>S. virginianum</i>	++
Section <i>Oliganthes</i>	
<i>S. aethiopicum</i>	++
<i>S. pyracanthos</i>	-
<i>S. tomentosum</i>	++
<i>S. violaceum</i>	++
Section <i>Stellatipilum</i>	
<i>S. grandiflorum</i>	++
Section <i>Torva</i>	
<i>S. hispidum</i>	++
<i>S. torvum</i>	++
Section <i>Acanthophora</i>	
<i>S. mammosum</i>	--
<i>S. viarum</i>	-, + (sauvetage d'embryons)
Section <i>Cryptocarpum</i>	
<i>S. sisymbriifolium</i>	+ (sauvetage d'embryons)
Section <i>Lasiocarpa</i>	
<i>S. stramonifolium</i>	---

■ Tableau 2

Capacités de croisement de l'aubergine avec des espèces apparentées appartenant au même sous-genre *Leptostemonum* (Daunay *et al.*, 1991).
 +++ : F1 fertile ; ++ : F1 partiellement fertile ; + : F1 stérile ;
 - : graines incapables de germer ; -- : graines anormales ;
 --- : pas de graines.

La stérilité partielle des hybrides interspécifiques de *S. melongena* avec d'autres espèces du genre *Solanum* pourrait être liée à des problèmes d'auto-incompatibilité apportés par le parent sauvage, et non par l'aubergine, elle-même auto-compatible (Daunay *et al.*, 1991). L'auto-incompatibilité dans la famille des *Solanaceae* est gamétophytique et principalement contrôlée par un locus multiallélique appelé locus S : lorsque l'allèle S du grain de pollen haploïde est identique à l'un ou l'autre des allèles des tissus diploïdes du style qui le reçoit, la croissance du tube pollinique est arrêtée (Franklin *et al.*, 1995).

Le sauvetage d'embryon a été utilisé avec succès pour obtenir des hybrides d'aubergine avec *S. khasianum* (Sharma *et al.*, 1980) et *S. torvum* (Daunay *et al.*, 1991). La fertilité des hybrides a par ailleurs parfois été restaurée par l'application de colchicine entraînant le passage à l'état amphiploïde. Ce fut le cas pour des hybrides issus du croisement de *S. melongena* avec *S. macrocarpon* (Gowda *et al.*, 1990) et *S. torvum* (Daunay *et al.*, 1991).

En dépit des caractères intéressants qu'elles peuvent apporter, les espèces sauvages utilisées dans les programmes d'amélioration de l'aubergine doivent être manipulées avec précaution car elles peuvent aussi parfois être porteuses de caractères défavorables, comme la très grande sensibilité à *Colletotrichum gloeosporioides* de *S. torvum* ou la saveur très amère (due à une forte teneur en saponine) de *S. linneanum*.

■ Variation somaclonale

L'aubergine se prête très bien à la culture *in vitro* et permet aisément la régénération de plantes par organogenèse (Alicchio *et al.*, 1982) et embryogenèse somatique (Matsuoka et Hinata, 1979 ; Sharma et Rajam, 1995 a, b), à partir d'explants, d'anthères (Isouard *et al.*, 1979), de microspores isolées (Miyoshi, 1996), et de protoplastes (Sihachakr *et al.*, 1993). Elle constitue donc un matériel adapté à l'exploitation des effets de la variation somaclonale. Cependant, toute la variabilité génétique induite par l'hybridation et la ségrégation n'étant pas encore complètement exploitée, la variation somaclonale présente pour l'instant peu d'intérêts chez l'aubergine (Hervé, 1995). Seule une variété résistante au sel obtenue par cultures cellulaires en milieu salin (1 % NaCl) a été développée (Jain *et al.*, 1988).

■ Haploïdisation

Chez *S. melongena* L., l'haploïdisation est principalement réalisée par androgenèse, utilisant la culture d'anthères ou de microspores

isolées. Les premiers haploïdes d'aubergine ont été régénérés à partir d'anthères (Raina et Iyer, 1973 ; Isouard *et al.*, 1979, Dumas de Vault et Chambonnet, 1982). L'induction du développement des grains de pollen nécessite un prétraitement de 8 jours à 35 °C, dans un milieu contenant du 2,4-D et de la kinétine (Dumas de Vault et Chambonnet, 1982). En dépit d'une légère baisse du rendement et de la qualité des fruits due à la consanguinité, les lignées obtenues par culture d'anthères se sont avérées être relativement performantes, certaines d'entre elles présentant même de nouveaux caractères intéressants comme une capacité à produire des fruits à basse température (Doré et Dumas de Vault, 1990).

Récemment, des haploïdes d'aubergine ont été obtenus par culture de microspores isolées ayant subi un prétraitement de 3 jours à 35 °C dans un milieu sans saccharose (Miyoshi, 1996). L'absence totale de sucre dans le milieu de culture supprime le développement gamétophytique et la synthèse d'ADN des microspores isolées. Ces inhibitions sont renforcées par l'application d'une courte période à 35 °C qui a pour effet de stimuler l'androgénèse.

Hybridation somatique

Comme nous l'avons vu précédemment, de nombreuses espèces apparentées à l'aubergine sont porteuses de caractères agronomiques intéressants, notamment de résistances à certaines maladies et parasites, mais ne peuvent pas toujours être croisées avec elle et produire par ces croisements des descendances fertiles. Afin de surmonter ces éventuelles barrières sexuées et de s'affranchir dans certains cas de l'étape délicate du sauvetage d'embryons, l'hybridation somatique par fusion de protoplastes a été utilisée pour faciliter l'introduction de ces caractères chez l'aubergine cultivée.

L'hybridation somatique est un moyen d'augmenter la variabilité nucléaire et cytoplasmique, et permet de transférer des caractères sans connaissance détaillée préalable des gènes impliqués dans leur expression (Jones, 1988). La fusion de protoplastes requiert la maîtrise de protocoles fiables d'isolement et de culture de protoplastes

et de régénération de plantes. Chez l'aubergine, les protoplastes sont isolés principalement à partir de tissus de mésophylle, choisis pour leur fort rendement en cellules (Bhatt et Fassuliotis, 1981 ; Jia et Potrykus, 1981). D'autres sources compétentes peuvent être utilisées, comme les tiges et les pétioles (Sihachakr et Ducreux, 1987 ; Sihachakr *et al.*, 1993). Un protocole efficace de régénération consiste à utiliser des protoplastes issus de plantes *in vitro*, à les diluer fortement quinze jours après la fusion et à transférer les cals formés sur un milieu de régénération contenant 2 mg.l⁻¹ de zéatine et 0,1 mg.l⁻¹ d'AIA (Sihachakr *et al.*, 1993).

Les deux techniques de fusion, chimique et électrique, ont été utilisées avec succès pour produire des hybrides somatiques d'aubergine avec ses espèces sauvages apparentées. Des résistances intéressantes aux flétrissements bactérien, fongiques, aux nématodes, aux mites et à *Leucinodes orbonalis* ont été transférées (Sihachakr *et al.*, 1994).

La première fusion somatique entre l'aubergine et *S. sisymbriifolium* a permis la régénération de 26 hybrides aneuploïdes. Ils possédaient tous le génome chloroplastique de *S. sisymbriifolium*, et étaient résistants aux nématodes et partiellement résistants aux mites (Gleddie *et al.*, 1986). Leur forte stérilité a cependant compromis leur utilité dans des programmes de sélection.

Vingt neuf hybrides somatiques ont été obtenus entre l'aubergine et *S. torvum* : 10 par fusion chimique (Guri et Sink, 1988 a) et 19 par fusion électrique (Sihachakr *et al.*, 1989 a). La plupart d'entre eux possédaient l'ADN chloroplastique de l'aubergine. Ils étaient tous résistants à la verticilliose, aux nématodes et aux mites.

Quatre vingt trois hybrides somatiques d'aubergine avec *S. khasianum*, espèce sauvage résistante à *Leucinodes orbonalis*, ont été produits par fusion électrique (Sihachakr *et al.*, 1988). L'analyse des chloroplastes de 6 d'entre eux a montré qu'ils étaient du type cultivé.

Une résistance à l'atrazine a été transférée d'une accession de *S. nigrum* résistante à cet herbicide dans l'aubergine, à la fois par fusion chimique (Guri et Sink, 1988 b) et électrique (Sihachakr *et al.*, 1989 b). Tous les hybrides possédaient les chloroplastes de *S. nigrum* et étaient donc résistants (doses testées : 0,1 M d'atrazine).

Des hybrides somatiques très fertiles ont été obtenus par fusion électrique de l'aubergine avec *S. aethiopicum* (Daunay *et al.*, 1993). Leur évaluation au champ a révélé qu'ils avaient une meilleure fertilité pollinique que leurs équivalents sexués (30-85 % contre 20-50 %) et un rendement, atteignant parfois 9 kg de fruits par plante, supérieur aux parents du croisement (3 à 4 fois plus) et aux hybrides sexués (qui ne produisaient que quelques centaines de grammes par plante). Des tests de résistance à *Ralstonia solanacearum* réalisés au champ en Indonésie ont montré que certains de ces hybrides très productifs étaient de plus résistants à la bactérie (Mulya, comm. pers.). D'autres hybrides entre *S. melongena* et *S. integrifolium* (décrite désormais comme *S. aethiopicum*), ainsi que leurs descendances autofécondées, ont été obtenus et caractérisés sur la base de leur morphologie et de marqueurs moléculaires (Rotino *et al.*, 1998).

L'hybridation somatique permet de réaliser des croisements intergénériques impossibles par voie sexuée. Des hybrides somatiques ont par exemple été produits entre l'aubergine et un triple mutant de tabac, déficient en chlorophylle et résistant à la streptomycine et à la kanamycine (Toki *et al.*, 1990). Trois séries d'expériences de fusion entre l'aubergine et un hybride sexué transformé de tomate et de *Lycopersicon pennellii* ont été réalisées. La première n'a permis d'obtenir que des cals portant des primordia de feuilles (Guri *et al.*, 1991), les deux autres ont abouti à la régénération de plantes normales (Liu *et al.*, 1995 ; Samoylov et Sink, 1996), dans un cas en irradiant un des partenaires avec des rayons gamma (Liu *et al.*, 1995).

Bien que l'association de deux génomes parentaux complets soit facile à réaliser par fusion symétrique, les hybrides somatiques qui en résultent, particulièrement lorsque les partenaires de fusion sont phylogénétiquement distants, sont souvent stériles et donc inutilisables dans les programmes d'amélioration de l'aubergine. De nombreux rétrocroisements sont nécessaires pour n'introduire dans la variété d'aubergine cultivée que les caractères agronomiques désirés et éliminer les caractères indésirables. Une solution à ce problème pourrait être de réaliser des fusions hautement asymétriques. Ces combinaisons asymétriques se réalisent naturellement après la fusion lorsque les partenaires sont éloignés (Pijnacker *et al.*, 1989 ; Gleba *et al.*, 1984 ; Pelletier *et al.*, 1985). Il s'agit ici d'accentuer le phénomène en fragilisant et en fragmentant le génome de l'espèce

apparentée par des irradiations (X, UV, gamma) afin d'obtenir des hybrides asymétriques contenant quelques fragments du génome de ce parent, associé au jeu complet de chromosomes de l'autre parent (Jones, 1988 ; Sihachakr *et al.*, 1994). Des hybrides asymétriques d'aubergine avec *S. torvum*, résistants au *Verticillium* et présentant une morphologie proche de l'aubergine, ont été récemment obtenus par irradiation aux rayons gamma des protoplastes de l'espèce sauvage (Jarl *et al.*, 1999).

Transformation génétique

Le génie génétique fournit désormais aux sélectionneurs d'aubergine de nouveaux outils permettant d'améliorer les variétés existantes et de créer une nouvelle variabilité. L'aubergine est un matériel approprié à l'application de ces techniques nouvelles, puisqu'elle répond très bien à la transformation par *Agrobacterium* (Guri et Sink, 1988 c ; Rotino et Gleddie, 1990) et à la régénération de plantes *in vitro* via l'organogenèse et l'embryogenèse somatique (Sihachakr *et al.*, 1993). De nombreux gènes d'intérêt conférant des résistances aux maladies et aux insectes sont de plus maintenant disponibles (Zhu *et al.*, 1994 ; Kombrink et Sonsich, 1995 ; Schuler *et al.*, 1998 ; Kumar *et al.*, 1998 a). Néanmoins, la transgenèse chez l'aubergine n'en est qu'à ses débuts. Jusqu'ici deux thèmes principaux ont été abordés avec succès : la résistance à *Coleoptans* (Rotino *et al.*, 1992 ; Arpaia *et al.*, 1997) et la parthénocarpie (fruits sans graines) (Rotino *et al.*, 1997).

Plusieurs expériences de faisabilité de la transformation génétique chez l'aubergine ont d'abord été réalisées en utilisant la transformation par vecteurs binaires d'*Agrobacterium* portant le gène marqueur nptII (résistance à la kanamycine) (Guri et Sink, 1988 c ; Filippone et Lurquin, 1989 ; Rotino et Gleddie, 1990). L'hérédité mendélienne du gène fonctionnel nptII a été démontrée au cours de trois générations d'auto-fécondation d'aubergines transformées (Sunsuri *et al.*, 1993). Suite à ces résultats encourageants, les premiers gènes d'intérêts ont commencé à être introduits chez l'aubergine.

Afin de développer une résistance au Colorado Potato Beetle (CPB) (*Leptinotarsa decemlineata* Say), un des insectes ravageurs de l'aubergine en Europe et en Amérique du Nord, les premières tentatives ont été menées pour transférer des gènes « sauvages » de *Bacillus thuringiensis* var. *Tolworthi* (Bt) codant pour une toxine spécifique de *Coleoptans* via *Agrobacterium tumefaciens*. L'expression de ces gènes s'est avérée alors trop faible pour un contrôle efficace de l'insecte (Rotino *et al.*, 1992 ; Chen *et al.*, 1995). Un gène Bt muté (Cry3B), montrant un meilleur taux d'expression après transfert, a été développé et introduit avec succès dans l'aubergine (Arpaia *et al.*, 1997). La présence de la toxine Cry3B dans des extraits de feuilles a été confirmée chez 57 des 93 plantes transgéniques testées en DAS-ELISA. Des essais en présence du ravageur ont révélé un effet insecticide significatif sur les larves néonatales du CPB chez 23 des 44 plantes testées. La descendance auto-fécondée des plantes transgéniques a montré un niveau de résistance similaire. Des résultats identiques ont été obtenus en transférant chez l'aubergine les gènes synthétiques Cry1Ab (Kumar *et al.*, 1998 b) et Cry3A (Jelenkovic *et al.*, 1998).

Une autre approche du génie génétique chez l'aubergine a consisté dans le développement de plantes à fruits parthénocarpiques (Rotino *et al.*, 1997), caractère attractif pour le consommateur. Le principe de cette transformation repose sur la manipulation des taux d'auxine pendant le développement du fruit. La construction transférée comprenait la partie codante du gène *iaaM* de *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* associée au promoteur ovule-spécifique *DefH9* d'*Antirrhinum majus*. En l'absence de pollinisation et sans apport exogène de phytohormones, les aubergines transgéniques ont développé des fruits parthénocarpiques sans graines, même à basse température (ce qui normalement inhibe la production de fruits chez les lignées non transformées). Ces fruits étaient plus lourds et plus grands que ceux des témoins castrés non transformés. Les fonctions reproductrices de la plante étaient par ailleurs indemnes car, après pollinisation, les plantes transformées ont produit des fruits indistinguables de ceux des témoins. En incorporant dans leur génome un gène dominant de stérilité mâle, ces plantes pourraient être utilisées au champ pour la production commerciale d'aubergines sans graines (Rotino *et al.*, 1997).

Conclusion et perspectives

L'évaluation des ressources génétiques de l'aubergine est bien avancée. Elle a mis en lumière l'existence de nombreux caractères agronomiques intéressants chez les espèces apparentées. Cependant comme jusqu'ici très peu de marqueurs moléculaires sont disponibles pour leur caractérisation, un effort devra être fait pour en développer d'autres à travers les techniques RFLP, RAPD et AFLP. Ces résultats devraient permettre d'enrichir la carte génétique existante, d'en établir de nouvelles et d'accélérer l'identification de gènes impliqués dans les résistances aux maladies et aux ravageurs.

Les capacités de régénération *in vitro* de l'aubergine à partir de cultures d'explants de cellules ou de protoplastes, ont permis l'application de nombreuses techniques de biotechnologie. Des caractères de résistance à différents pathogènes ont pu en particulier être transférés par hybridation somatique (Sihachakr *et al.*, 1994). La production d'hybrides hautement asymétriques ouvre de nouvelles perspectives d'enrichissement du pool génétique de l'espèce par augmentation de la variabilité nucléaire et cytoplasmique. Les études relatives à la transgénèse se poursuivent pour permettre en particulier l'introduction de gènes de résistances aux stress biotiques et abiotiques. Il serait intéressant de développer aussi la production de métabolites secondaires et d'améliorer la qualité nutritionnelle du fruit. Récemment, des plantes transgéniques ont montré leurs avantages en termes de coût, de rapidité et de flexibilité de production de protéines recombinantes à intérêt pharmaceutique (Artsaenko *et al.*, 1998 ; Bird *et al.*, 1988 ; Zeitlin *et al.*, 1998 ; Vaquero *et al.*, 1999). L'aubergine étant, d'une part, cultivable dans toutes les régions tropicales et tempérées et, d'autre part, très populaire dans certaines des grandes zones de pauvreté du monde, son intérêt dans ce domaine est évident. Une attention particulière doit cependant être consacrée à l'utilisation des marqueurs de sélection antibiotiques ou herbicides. Ils n'ont pas d'autre utilité qu'au sein du laboratoire et leur présence dans les aliments ont provoqué d'importantes réactions au niveau du public. Il serait judicieux de s'engager dès maintenant vers des solutions alternatives comme par exemple l'utilisation de gènes marqueurs codant pour des enzymes

métabolisant des sucres, telles la phospho-mannose isomerase (Joersbo *et al.*, 1998) ou la xylose isomerase (Haldrup *et al.*, 1998).

Remerciements

Travaux réalisés avec le soutien du Contrat européen N° IC18-CT97-0187.

Bibliographie

- Alicchio R, Del Grosso E, Boschieri E 1982 —
Tissue cultures and plant regeneration from different explants in six cultivars of *Solanum melongena*. *Experientia* 38 : 449-450.
- Ano G, Hebert Y, Prior P, Messiaen CM 1991 —
A new source of resistance to bacterial wilt of eggplants obtained from a cross: *Solanum aethiopicum* L. x *Solanum melongena* L. *Agronomie* 11 : 555-560.
- Arpaia S, Mennella G, Onofaro V, Perri E, Sunseri F, Rotino GL 1997 —
Production of transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.) resistant to Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Theor. Appl. Genet.* 95 : 329-334.
- Artsaenko O, Kettig B, Fiedler U, Conrad U, Düring K 1998 —
Potato tubers as a biofactory for recombinant antibodies. *Mol. Breeding* 4 : 313-319.
- Baksh S, Iqbal M 1979 —
Compatibility relationships in some non tuberous species of *Solanum*. *J. Hortic. Sci.* 54 : 163.
- Bhatt DP, Fassuliotis G 1981 —
Plant regeneration from mesophyll protoplasts of eggplant. *Z Pflanzenphysiol.* 104 : 481-489.
- Bindra OS, Mahal MS 1981 —
Varietal resistance in eggplant (brinjal) (*Solanum melongena*) to the cotton jassid (*Amrasca biguttula biguttula*). *Phytoparasitica* 9 : 119-131.
- Bird RE, Hardman KD, Jacobsen JW, Jonhson S, Kaufman BM, Lee SM, Lee T, Pope SH, Riordan GS, Whitlow M 1988 —
Single-chain antigen binding proteins. *Sciences* 242 : 423-426.
- Chelliah S, Srinivasan K 1983 —
Resistance in bhendi, brinjal and tomato to major insects and mites pests. In : National seminar on breeding crop plants for resistance to pests and diseases, 1983/05/25-27, (pp 43-44) Coimbatore, Tamil Nadu, India.
- Chen Q, Jelenkovic G, Chin C, Billings S, Eberhardt J, Goffreda JC 1995 —
Transfer and transcriptional expression of coleopteran *CryIIIb* endotoxin gene of *Bacillus thuringiensis* in Eggplant. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 120 : 921-927.
- D'Arcy WG 1972 —
Solanaceae studies, II. Typification of subdivisions of *Solanum*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 59 : 262-278.

- Daunay MC, Lester RN 1989 — The usefulness of taxonomy for *Solanaceae* breeders, with special reference to the genus *Solanum* and to *Solanum melongena* L. (eggplant). *Capsicum Newsllett.* 7 : 10.
- Daunay MC, Lester RN, Laterrot H 1991 — The use of wild species for the genetic improvement of Brinjal eggplant (*Solanum melongena*) and tomato (*Lycopersicon esculentum*). In : Hawkes JC, Lester RN, Nee M, Estrada N (Eds) *Solanaceae III : Taxonomy, Chemistry, Evolution*, Vol 27 (pp 389-413). Royal Botanic Gardens Kew and Linnean Soc., London.
- Daunay MC, Chaput MH, Sihachakr D, Allot M, Vedel F, Ducreux G 1993 — Production and characterization of fertile somatic hybrids of eggplant (*Solanum melongena* L.) with *Solanum aethiopicum* L. *Theor. Appl. Genet.* 85 : 841-850.
- Dhawan SC, Sethi CL 1976 — Observations on the pathogenicity of *Meloidogyne incognita* to eggplant and of relative susceptibility of some varieties to the nematodes. *Ind. J. Nematod.* 6: 39-46.
- Doré C, Dumas de Vaulx R 1990 — Utilisation de l'haploïdie dans l'amélioration de quelques espèces potagères (asperge, chou, piment, aubergine et melon). In : Cinquantenaire de la culture *in vitro*. Versailles (France). 24-25 oct. 1989, vol 51 (pp 177-185). Les Colloques de l'Inra, Paris.
- Dumas de Vaulx R, Chambonnet D 1982 — Culture *in vitro* d'anthers d'aubergine (*Solanum melongena* L.) : stimulation de la production de plantes au moyen de traitements à + 35 °C associés à de faibles teneurs en substances de croissance. *Agronomie* 2 : 983-988.
- Filipone E, Lurquin PF 1989 — Stable transformation of eggplant (*Solanum melongena* L.) by co-cultivation of tissue with *Agrobacterium tumefaciens* carrying a binary plasmid vector. *Plant Cell Rep.* 8 : 370-373.
- Franklin FCH, Lawrence MJ, Franklin-Tong VE 1995 — Cell and molecular biology of self-incompatibility in flowering plants. *Int. Rev. Cytol.* 158 : 1-64.
- Gleba YY, Piven NM, Nomamitski IK, Sytnik NK 1984 — Transmission genetics of the somatic hybridisation process in *Nicotiana*. 1. Hybrids and cybrids among the regenerants from cloned protoplast fusion products. *Theor. Appl. Genet.* 69 : 121-128.
- Gleddie S, Keller WA, Setterfield G 1986 — Production and characterization of somatic hybrids between *Solanum melongena* L. and *S. sisymbriifolium* Lam. *Theor. Appl. Genet.* 71 : 613-621.
- Gowda PHR, Shivashankar KT, Joshi SH 1990 — Interspecific hybridization between *Solanum melongena* and *Solanum macrocarpon*: study of the F1 hybrid plants. *Euphytica* 48 : 59-61.
- Grubben GJM 1977 — Tropical vegetables and their genetic resources. In : Tindall MD, Williams J.T. (Eds), vol 23 (pp 34-37). IBPGR, Rome.
- Guri A, Sink KC 1988 a — Interspecific somatic hybrid plants between eggplant (*Solanum melongena*) and *Solanum torvum*. *Theor. Appl. Genet.* 76 : 490-496.
- Guri A, Sink KC 1988 b — Organelle composition in somatic hybrids between an atrazine resistant biotype of *Solanum nigrum* and *Solanum melongena*. *Plant Sci.* 58 : 51-58.

- Guri A, Sink KC 1988 c —
Transgénèse par vecteur binaire.
J. Plant Physiol. 133 : 52-55.
- Guri A, Dunbar LJ, Sink KC 1991 —
Somatic hybridization between
selected *Lycopersicon* and *Solanum*
species. Plant Cell Rep. 10 : 76-80.
- Haldrup A, Petersen SG,
Okkels FT 1998 —
Positive selection: a plant selection
principle based on xylose isomerase,
an enzyme used in the food industry.
Plant Cell Rep. 18 : 76-81.
- Hervé Y 1995 —
Intégration des biotechnologies
chez les plantes légumières.
In : Demarly Y, Picard E (éd.)
Intégration chez les plantes
légumières, fruitières et ornementales.
Coll. Biotechnologies végétales,
(pp 5-60). Cned-Aupelf-Uref.
- Isouard G, Raquin C, Demarly Y 1979 —
Obtention de plantes haploïdes
et diploïdes par culture *in vitro*
d'anthères d'aubergine
(*Solanum melongena* L.).
C.R. Acad. Sci. Paris 288 : 987-989.
- Isshiki S, Uchiyama T,
Tashiro Y, Miyazaki S 1998 —
RFLP analysis of a PCR amplified
region of chloroplast DNA in eggplant
and related *Solanum* species.
Euphytica 102 : 295-299.
- Jain RK, Dhawan RS,
Sharma DR, Chowdhury JB 1988 —
Selection and characterization
of NaCl tolerant cell cultures of brinjal
(*Solanum melongena* L.).
Indian Plant Physiol. 31 : 431.
- Jarl CI, Rietveld EM,
De Haas JM 1999 —
Transfer of fungal tolerance through
interspecific somatic hybridisation
between *Solanum melongena* and
S. torvum. Plant Cell Rep. 18 : 791-796.
- Jelenkovic G, Billings S, Chen Q,
Lashomb, Hamilton G, Ghidui G 1998 —
Transformation of eggplant with
synthetic CryIIIA gene produces
a high level of resistance
to the Colorado potato beetle.
J. Am. Soc. Hort. Sci. 123 : 19-25.
- Jia J, Potrykus I 1981 —
Mesophyll protoplasts from *Solanum
melongena* var *depressum* Bailey
regenerate to fertile plants.
Plant Cell Rep. 1 : 71-72.
- Joersbo M, Donaldson I,
Kreiberg J, Petersen SG,
Brunstedt J, Okkels FT 1998 —
Analysis of mannose selection used
for transformation of sugar beet.
Molecular Breeding 4 : 111-117.
- Jones M 1988 —
Fusing plants protoplasts.
TibTech 6 : 153-158.
- Kaan F 1973 —
Etude de l'hérédité de la résistance
de l'Aubergine (*Solanum melongena*)
à l'antracnose des fruits
(*Colletotrichum gloeosporioides*
f. sp. *melongenae* Penzig Fournet).
Ann. Amélior. Plantes 23 : 127-131.
- Kalda TS, Swarup V,
Choudhury B 1977 —
Resistance to *Phomopsis* blight
in eggplant. Veg. Sci. 4 : 90-101.
- Karihaloo JL, Gottlieb LD 1995 —
Allozyme variation in the eggplant,
Solanum melongena L. (*Solanaceae*).
Theor. Appl. Genet. 90 : 578-583.
- Karihaloo JL, Brauner S,
Gottlieb LD 1995 —
Random amplified polymorphic DNA
variation in the eggplant, *Solanum
melongena* L. (*Solanaceae*).
Theor. Appl. Genet. 90 : 767-770.
- Khan R 1979 —
Solanum melongena and its ancestral
forms. In : Hawkes JC, Lester JG
& Skelding AD (Eds), The biology
and taxonomy of the *Solanaceae*,
(pp 629-638). Linean Soc.,
Academic Press, London.

- Kombrink E, Sonsich IE 1995 — Defence responses of plants to pathogens. *Adv. Bot. Res.*, 25 : 1-34.
- Kumar PA, Mandaokar A, Sreenivasu K, Chakrabarti SK, Bisaria S, Sharma SR, Kaur S, Sharma RP 1998 a — Insect resistant transgenic brinjal plants. *Mol Breeding* 4: 33-37.
- Kumar PA, Mandaokar AD, Sharma RP 1998 b — Genetic engineering for the improvement of eggplant (*Solanum melongena* L.). *AgBiotech.* 10 : 329-332.
- Liu KB, Li YM, Sink KC 1995 — Asymmetric somatic hybrid plants between an interspecific *Lycopersicon* hybrid and *Solanum melongena*. *Plant Cell Rep.* 14 : 652-656.
- Mace ES, Lester RN, Gebhardt CG 1999 — AFLP analysis of genetic relationships among the cultivated eggplant, *Solanum melongena* L., and wild relatives (*Solanaceae*). *Theor. Appl. Genet.* 99 : 626 - 633.
- Matsuoka H, Hinata K 1979 — NAA-induced organogenesis and embryogenesis in hypocotyl callus of *Solanum melongena* L. *J. Exp. Bot.* 30 : 363-370.
- Messiaen CM 1989 — L'aubergine. In : Le potager tropical, Cultures spéciales, vol 2 (pp 238-257) Collection Techniques vivantes, Agence de coopération culturelle et technique-Presses univ., Paris.
- Miyoshi K 1996 — Callus induction and plantlet formation through culture of isolated microspores of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Plant Cell Rep.* 15 : 391-395.
- Mochizuki H, Yamakawa K 1979 — Resistance of selected eggplant cultivars and related wild species to bacterial wilt (*Pseudomonas solanacearum*). *Bull. Veg. Ornamental Crops Res. Stn.* 6: 1-10.
- Nothman J, Ben Yephet Y 1979 — Screening eggplant and other *Solanum* species for resistance to *Verticillium dahliae*. *Plant Dis. Rep.* 63 : 70-73.
- Nunome T, Yoshida T, Hirai M 1998 — Genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena* L.). *Proc. Xth Eucarpia meeting on genetics and breeding of Capsicum and Eggplant*, (pp 239-242), Sept. 1998, Avignon, France.
- Pelletier G, Vedel F, Belliard G 1985 — Cybrids in genetics and breeding. *Hereditas* 3 : 49-56.
- Pijnacker LP, Ferwerda MA, Puite KJ, Schaart JG 1989 — Chromosome elimination and mutation in tetraploid somatic hybrids of *Solanum tuberosum* and *Solanum phureja*. *Plant Cell Rep.* 8 : 82-85.
- Raina SK, Iyer RD 1973 — Differentiation of diploid plants from pollen callus in anther cultures of *Solanum melongena* L. *Z. Pflanzenzucht* 70 : 275.
- Raj KG, Kumaraswami T 1979 — Screening of eggplants for resistance to *Epilachna vigintioctopunctata*. *Sci. Cult.* 45 : 60-61.
- Rao NN 1979 — The barriers to hybridisation between *Solanum melongena* and some other species of *Solanum*. In : Hawkes JG, Lester RN, Skelding AD (eds), *The biology and taxonomy of the Solanaceae*, Acad. Press, London, pp 605-614.
- Rao NVB, Sohi HS, Vijay, OP 1976 — Reaction of some varieties of brinjal (*Solanum melongena* L.) to *Pseudomonas solanacearum* Sm. *Veg. Sci.* 3 : 61-64.

- Rotino GL, Gleddie S 1990 — Transformation of eggplant (*Solanum melongena* L.) using a binary *Agrobacterium tumefaciens* vector. *Plant Cell Rep.* 9: 26-29.
- Rotino GL, Arpaia S, Iannacone R, Iannamico V, Mennella G, Onofaro V, Perrone D, Sunseri F, Xike Q, Sponga F 1992 — *Agrobacterium*-mediated transformation of *Solanum* spp. using a Bt gene effective against coleopterans. Proc VIIIth Meeting on Genetics and Breeding of *Capsium* and Eggplant. Rome, Italy, 7-10 Settembre 1992. *Capsium Newsletter*, special issue : 295-300.
- Rotino GL, Perre E, D'Alessandro A, Mennella G 1998 — Characterisation of fertile somatic hybrids between eggplant (*S. melongena* L.) and *S. integrifolium*. Proc. Xth Eucarpia meeting on genetics and breeding of Capsicum and Eggplant, (pp 213-217). Sept. 1998, Avignon, France.
- Rotino GL, Perri E, Zottini M, Sommer H, Spena A 1997 — Genetic engineering of parthenocarpic plants. *Nat. Biotech.* 15 : 1398-1401.
- Sakata Y, Lester RN 1994 — Chloroplast DNA diversity in *Solanum melongena* and its related species *S. incanum* and *S. marginatum*. *Euphytica* 81 : 1-4.
- Sambandam CN, Chelliah S 1983 — Breeding brinjal for resistance to *Aphis gossypii*. C.R. National seminar on breeding crop plants for resistance to pests and diseases. 1983/05/25-27, (pp 15) Coimbatore, Tamil Nadu, India.
- Samoylov VM, Sink KC 1996 — The role of irradiation dose and DNA content of somatic hybrid calli in producing asymmetric plants between an interspecific tomato hybrid and eggplant. *Theor. Appl. Genet.* 92 : 850-857.
- Schuler TH, Poppy GM, Kerry BR, Denholm I 1998 — Insect resistance transgenic plants. *Trends Biotechnol.* 16 : 168-175.
- Sharma DR, Chowdhury JB, Ahuja U, Dhankhar BS 1980 — Interspecific hybridization in genus *Solanum*: a cross between *S. melongena* and *S. khasianum* through embryo culture. *Z. Pflanzenzüchtg.* 85 : 248-253.
- Sharma P, Rajam MV 1995 a — Genotype, explant and position effects on organogenesis and somatic embryogenesis in eggplant (*Solanum melongena* L.). *J. Exp. Bot.* 46 : 135-141.
- Sharma P, Rajam MV 1995 b — Spatial and temporal changes in endogenous polyamine levels associated with somatic embryogenesis from different hypocotyl segments of eggplant (*Solanum melongena* L.). *J. Plant Physiol.* 146 : 658-664.
- Sihachakr D, Ducreux G 1987 — Cultural behavior of protoplasts from different organs of eggplant (*Solanum melongena* L.) and plant regeneration. *Plant Cell Tissue and Org. Cult.* 11 : 179-188.
- Sihachakr D, Haicour R, Serrat I, Barrientos E, Herbreteau C, Ducreux G, Rossignol L, Souvannavong V 1988 — Electrofusion for the production of somatic hybrid plants of *Solanum melongena* L. and *Solanum khasianum* C.B. Clark. *Plant Sci.* 57 : 215-223.
- Sihachakr D, Haicour R, Barrientos E, Ducreux G, Rossignol L 1989 a — Somatic hybrid plants produced by electrofusion between *Solanum melongena* L. and *Solanum torvum* Sw. *Theor. Appl. Genet.* 77 : 1-6.
- Sihachakr D, Ducreux G, Vedel F, Allot M, San LH, Servaes A 1989 b —

- Somatic hybridization of eggplant (*Solanum melongena* L.) with *Solanum nigrum* L. by protoplast electrofusion. Int. Conf. The impact of biotechnology on agriculture, 10-12 July 1989, Amiens, France.
- Sihachakr D, Chaput MH, Serraf I, Ducreux G 1993 — Regeneration of plants from protoplasts of eggplant (*Solanum melongena* L.). In : Bajaj YPS (Ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry, Plant protoplasts and genetic engineering, Vol IV (pp 108-122) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Sihachakr D, Daunay MC, Serraf I, Chaput MH, Mussio I, Haicour R, Rossignol L, Ducreux G 1994 — Somatic hybridization of eggplant (*Solanum melongena* L.) with its close and wild relatives. In : Bajaj YPS (Ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry, Somatic hybridization in crop improvement, Vol I (pp 255-278). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Sitaramaiah K, Sinha SK, Vishwakarma SN 1985 — Reaction of brinjal cultivars to bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Indian J. Mycol. Plant Pathol. 14 : 218-222.
- Sunsuri F, Fiore MC, Mastrovito F, Tramontano E, Rotino GL 1993 — *In vitro* selection and genetic analysis for kanamycin resistance in transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.). J. Genet. Breeding 47 : 299-306.
- Toki S, Kameya T, Abe T 1990 — Production of a triple mutant, chlorophyll-deficient, streptomycin- and kanamycin-resistant *Nicotiana tabacum*, and its use in intergeneric somatic hybrid formation with *Solanum melongena*. Theor. Appl. Genet. 80 : 588-592.
- Vaquero C, Sack M, Chandler J, Drossard J, Schuster F, Monecke M, Schillberg S, Fischer R 1999 — Transient expression of a tumor-specific single-chain fragment and chimeric antibody in tobacco leaves. Proc. Natl. Acad. Sci. 96 : 11128-11133.
- Whalen MD 1984 — Conspectus of species groups in *Solanum* subgenus *Leptostemonum*. Gentes Herbarum 12 : 282.
- Yamakawa K, Mochizuki H 1979 — Nature and inheritance of *Fusarium* wilt resistance in eggplant cultivars and related wild *Solanum* species. Bull. Veg. Om. Crops Res. Stn. 6:19-27.
- Zeitlin L, Olmsted SS, Moench TR, Co MS, Martinell BJ, Paradkar VM, Russell DR, Queen C, Cone RA, Whaley KJ 1998 — A humanized monoclonal antibody produced in transgenic plants for immunoprotection of the vagina against genital herpes. Nat. Biotechnol. 16 : 1361-1364.
- Zhu Q, Maher EA, Masoud S, Dixon RA, Lamb CJ 1994 — Enhanced protection against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco. Bio Technology 12 : 807-812.