

Nouveaux résultats sur le déterminisme génétique de la résistance foliaire totale du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) à la bactériose (*Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye, races 18 et 20)

J.C. Follin (1), B. Girardot (1)
V. Mangano (2), R. Benitez (2)

(1) IRCT-CIRAD, B.P. 5035, 34032 MONTPELLIER CEDEX, FRANCE
(2) Institut Agronomique National, CAACUPE, PARAGUAY

Résumé

L'étude de la ségrégation de la résistance foliaire totale à la race 18 et à la race 20 (nouvelle race africaine) dans la descendance de 17 croisements réalisés au Paraguay et en France indique que pour les deux races la résistance est dominante et ségrège comme un facteur unique (gène ou inkat).

Ces deux facteurs de résistance n'ont pu être disjointés dans les croisements impliquant la lignée S295, résistante aux deux races. Il est vraisemblable que la résistance à la race 20 vient du renforcement de la résistance à la race 18, par l'addition d'un gène mineur et la formation d'un nouveau inkat ségrégeant comme un gène unique.

MOTS CLÉS : cotonnier, bactériose, déterminisme génétique de la résistance totale, races 18 et 20.

Introduction

Dans diverses régions d'Afrique est apparue aux débuts des années 80, une nouvelle race de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*, que l'on peut considérer comme représentant la race 20, suivant la gamme d'hôte différentielle utilisée aux Etats-Unis (6, 7, 12, 18).

Cette nouvelle race est capable de surmonter la résistance foliaire totale à la bactériose de toutes les variétés commerciales de cotonnier Upland du monde entier que nous avons testées, et son développement actuel, dans la plupart des pays cotonniers africains, a rendu nécessaire la reprise des études sur un problème que l'on pensait définitivement résolu.

Dès 1985, une variété possédant la résistance totale à cette race a été trouvée au Tchad (10, 11); la transmission de cette résistance à des variétés commerciales nécessitait une étude de son déterminisme génétique, comparé à celui de la résistance à la race 18 qu'il nous a semblé nécessaire de reprendre. En effet, les remarquables résultats obtenus dans la pratique, avec la création de variétés totalement résistantes, ne doivent pas masquer la faiblesse des explications théoriques parfois proposées.

Une contradiction est évidente entre les synthèses réalisées (3, 9, 15), claires, mais simplificatrices, et les publications originales dont la lecture donne souvent, au contraire, un sentiment de confusion; ceci, pour plusieurs raisons:

- il existe de très grandes différences entre les interprétations des résultats obtenus au Soudan, en Afrique de l'Est et en Afrique Centrale;

- il n'a pas été tenu compte, dans les programmes de sélection réalisés en Afrique, des possibilités de variation du pathogène, bien que cette possibilité ait été soupçonnée (15) ou démontrée (2,5);

- il est parfois utilisé des mélanges de races pour les inoculations artificielles, ce qui est critiquable, car cela entraîne, pour les inoculations ponctuelles en serre, un risque de protection croisée. Elle empêche une race normalement virulente de s'exprimer, si elle est associée à une race avirulente induisant une réaction de résistance (19). Pour les inoculations au champ, un mélange de races conduit à une répartition inégale de l'inoculum «actif» suivant les plants, si dans la population il y a plusieurs gènes majeurs de résistance. Ce dernier point n'est pas gênant si on recherche uniquement la résistance totale, mais il peut fausser les résultats si on essaie de quantifier la résistance partielle, pour la sélection ou pour une analyse du déterminisme génétique (17).

Ces trois principaux éléments nous ont incités à ne considérer aucun résultat comme acquis et à conduire nos travaux en tentant de contrôler au mieux les conditions externes. Nous avons aussi éliminé l'interprétation personnelle en se limitant à l'observation de la résistance totale.

Matériel et méthodes

Tous les résultats ont été obtenus après inoculation à la seringue, dans les feuilles cotylédonaires de plantules de 8 à 10 jours, d'une suspension dense de bacté-

ries de race connue. Les cotonniers sont disposés en serre ou en milieu contrôlé (salle régulée à 30°C avec 12 h de jour et 12 h d'obscurité).

Deux races sont utilisées, la race 18 et la nouvelle race africaine : dans les expérimentations de Montpellier, les deux races sont inoculées au même plant, chacune d'elles sur une feuille cotylédonaire différente. La race 18 inoculée au Paraguay a été isolée sur place, celles utilisées à Montpellier viennent du Burkina Faso.

L'évaluation est faite sept jours après l'inoculation, elle est du type «tout ou rien» : la plante est jugée comme résistante à la race considérée (réaction d'hypersensibilité) ou sensible (présence de taches huileuses). Les cas douteux (pas de réaction d'hypersensibilité et pas de développement bactérien) sont rares et font l'objet d'une seconde inoculation. Il n'a pas été observé de cas de développement bactérien à la périphérie de la réaction d'hypersensibilité.

La résistance à la race 18 de la variété 271-6 (Para-

guay) vient du BTK12 (Afrique Centrale) et donc du N'Kourala variété ancienne du Mali, elle est classiquement attribuée à B₂ B₃ (16). Celles du Reba P279 (Paraguay), de la lignée SP510 × P279 (Paraguay) et de la variété Guazuncho (Argentine) sont héritées de l'Allen (Nigéria) via le Reba B50 (Afrique Centrale), elle a été attribuée aux gènes B_{9L} B_{10L} (16). Enfin, la résistance du cultivar nord-américain 101-102 B est issue du croisement d'un *G. barbadense* Bar 4/16 et de l'Empire WR, elle serait due à l'association B₂ B₃.

La lignée S295 (PAN 575 × SR₁ F₄ × J193) a été sélectionnée au Tchad, elle est résistante à la race 18 mais, aussi, à la nouvelle race (10).

Les variétés T 120-7 (Côte-d'Ivoire), Deltapine 26 et 41 (Etats-Unis) sont sensibles à toutes les races.

Résultats

Paraguay

Seules existent dans ce pays les races 1 à 18, les variétés anciennement résistantes en Afrique le sont donc aussi au Paraguay, comme d'ailleurs sur tout le conti-

ment américain. La race 18, seule, a donc été utilisée dans des études menées en serre non chauffée en période relativement fraîche (10-25°C, à l'extérieur).

Toutes les F₁ étaient totalement résistantes.

TABLEAU 1
Résultats des inoculations de bactériose (race 18) réalisées sur plantules, en serre au Paraguay.
Results of inoculation of seedlings with bacterial blight (strain 18) under glass house in Paraguay.

Croisements	Gènes majeurs supposés	Nombre de plants	Résistants	Sensibles	χ^2	Probabilités
F₁						
271-6 × DPL (1) 41	B ₂ B ₃ × 0	484	367	117	0,13	0,50 < P < 0,75
Reba P279 × DPL 26	B _{9L} B _{10L} × 0	503	392	121	0,19	0,50 < P < 0,75
Reba P279 × DPL 41	B _{9L} B _{10L} × 0	527	414	113	3,37	0,05 < P < 0,10
(B50 × L299-10) × DPL 26	B _{9L} B _{10L} × 0	482	343	139	3,58	0,05 < P < 0,10
L22 × DPL 41	B _{9L} B _{10L} × 0	199	153	46	0,28	0,50 < P < 0,75
B50 × DPL 41	B _{9L} B _{10L} × 0	696	541	155	2,62	0,10 < P < 0,20
Guazuncho × 271-6	B _{9L} B _{10L} × B ₂ B ₃	524	524	0		
BC (2)						
(L22 × DPL 41) × DPL 41		675	349	326	0,71	0,25 < P < 0,50
(B50 × DPL 41) × DPL 41		127	70	57	1,13	0,25 < P < 0,50

(1) DPL : Deltapine

(2) BC : back cross

Le tableau 1 donne les résultats des inoculations réalisées en 1984 et 85. Les χ^2 sont calculés en prenant comme hypothèse que la résistance est conférée par un gène dominant, donc d'une distribution 3/1 pour les F₁ et 1/1 pour les test-crosses.

Les χ^2 , pour 1 degré de liberté (d.d.l.) sont tous inférieurs au seuil choisi de P = 0,05. Seuls deux croisements (B50 × L299-10) × Deltapine 26 et Reba P279 × Deltapine 41 apparaissent moins fiables.

Dans les deux cas où on dispose de l'analyse du croisement de retour, l'hypothèse monofactorielle se trouve vérifiée d'une manière à peu près certaine.

Pour les six F₁ le χ^2 d'homogénéité est de 9,29 avec 5 d.d.l., il est inférieur au seuil P = 0,05; en fait, un seul croisement (B50 × L299-10) × Deltapine 26 contribue pour 70% à la valeur de ce χ^2 . Un regroupement des résultats est donc possible, ce qui donne 2200

résistants et 691 sensibles ($\chi^2 = 1,8$) soit respectivement 76,1 et 23,9%.

Pour les deux croisements de retour, le χ^2 d'homogénéité est de 0,6 (0,30 < P < 0,50); si on regroupe les résultats, on obtient 419 résistants R et 383 sensibles S ($\chi^2 = 1,5$) soit 52,2 et 47,8%.

Par ailleurs, il faut noter que le croisement Guazuncho × 271-6 ne donne aucun plant sensible, ce qui indique une homologie probable de «B₂B₃» et de «B_{9L} B_{10L}».

Montpellier

Croisements réalisés et inoculés à Montpellier

Les plantules F₁ sont résistantes aux deux races. Les résultats des F₂ et test-crosses sont précis et les χ^2 obtenus, toujours avec l'hypothèse d'une résistance dominante monofactorielle, sont tous inférieurs à la probabilité P = 0,05 retenue (tab. 2).

TABLEAU 2

Résultats des inoculations par la bactériose (race 18 et nouvelle race n.r.) des croisements réalisés à Montpellier (salle régulée à 30°C)
 Results of inoculation of crosses with bacterial blight (strain 18 and new strain, n.r.) in Montpellier (in a room kept at 30°C).

Croisements	Gènes majeurs supposés	Nombre de plants	(1) R.n.r. R.r.18	(2) S.n.r. R.r.18	R.n.r. S.r.18	S.n.r. S.r.18	χ^2	Probabilités
F2								
S295 × T120-7	X × 0	102	74	0	0	28	0,32	0,50 < P < 0,75
S295 × 101-102B	X × B2B3	104	80	24	0	0	0,32	0,50 < P < 0,75
BC								
(S295 × T120-7) × T120-7		99	54	45	0	45,5	0,82	0,30 < P < 0,50
(S295 × 101-102B) × 101-102B		124	64	60			0,04	0,75 < P < 0,90

(1) R : résistante

(2) S : sensible

Les remarques suivantes peuvent être faites :

- 1- le caractère monogénique de la résistance à la race 18 se confirme;
- 2- la résistance de S295 à la nouvelle race serait également dominante et monogénique;
- 3- on ne trouve que des phénotypes parentaux et pas de recombinants, en particulier on n'a trouvé aucun plant résistant à la nouvelle race, sensible à la race 18 dans les croisements S295 (RR') × T 120-7 (SS') et (S295 × T 120-7) × T 120-7. Les facteurs déterminant ces deux résistances sont donc très fortement liés.

Croisements réalisés au Paraguay et inoculés à Montpellier

Pour des raisons évidentes de sécurité, les plantules des croisements réalisés au Paraguay ont été inoculées à Montpellier.

Pour le croisement résistant aux deux races par sensible aux deux races (S295 × Deltapine 41) les résultats sont conformes à ceux obtenus à partir des croisements réalisés à Montpellier. La résistance aux deux races ségrège comme si elle était monofactorielle, on ne retrouve pas de recombinants, les deux χ^2 sont inférieurs au seuil P = 0,05 (tabl. 3).

TABLEAU 3

Résultats des inoculations par la bactériose (race 18 et nouvelle race n.r.) des croisements réalisés au Paraguay (salle régulée à 30°C)
 Results of inoculation of crosses with bacterial blight (strain 18 and new strain, n.r.) in Paraguay (in a room kept at 30°C).

Croisements	Gènes majeurs supposés	Nombre de plants	R.n.r. R.r.18	S.n.r. R.r.18	R.n.r. S.r.18	S.n.r. S.r.18	χ^2	Probabilités
F2								
S295 × Deltapine 41	X × 0	167	130	0	0	37	0,8	0,30 < P < 0,50
S295 × Reba P279	X × BaLBwL	205	142	63	0	0	3,7	0,05 < P < 0,10
TC								
(S295 × DPL41) × DPL41		43	24	0	0	19	0,58	0,30 < P < 0,50
(S295 × P279) × DPL41		50	23	27	0	0	0,34	0,50 < P < 0,75

Les résultats sont moins bons pour la F₂ du croisement résistant aux deux races X résistant à la race 18 (S295 × P279), on a dans ce cas un excédent très net de plants sensibles à la race 20; ce résultat s'accorderait avec l'hypothèse de deux gènes liés, mais les résultats du croisement de la F₁ avec le récessif complet Deltapine 41 ne confirment pas cette hypothèse. Dans

ce dernier croisement on ne retrouve pas non plus de recombinants (sensibles à la race 18, résistants à la nouvelle race).

Le tableau 4 donne les résultats des huit croisements inoculés à Montpellier, en séparant la résistance à la race 18 et la résistance à la race 20.

TABLEAU 4

Regroupements (tableaux 3 et 4) des plants résistants et sensibles aux races 18 et 20 (nouvelle race).
 Grouping (Tables 3 and 4) of seedlings resistant and sensitive to strains 18 and 20 (new strain).

Croisements	Nombre de plants	Résistants race 18	Sensibles race 18	Résistants race 20	Sensibles race 20	χ^2	Probabilités
F2 (4 croisements)	578			426	152	0,51	0,30 < P < 0,50
BC (4 croisements)	316			165	151	0,60	0,30 < P < 0,50
F2 (2 croisements)	269	204	65			0,03	0,30 < P < 0,75
BC (2 croisements)	142	78	64			1,40	0,20 < P < 0,30

Le χ^2 d'homogénéité pour les F₂ des croisements résistants race 20 × sensibles race 20 est égal à 2,97 (0,30 < P < 0,50 pour 3 d.d.l.) ; pour les F₂ des croisements résistants race 18 × sensibles race 18, il est de 0,98 (0,30 < P < 0,50 pour 1 d.d.l.) ; pour les test-crosses correspondants, les deux χ^2 d'homogénéité

sont de 1,23 (0,70 < P < 0,80 pour 3 d.d.l.) et de 0,025 (0,80 < P < 0,90 pour 1 d.d.l.) .

Ces regroupements confirment que l'hypothèse d'un déterminisme monofactoriel est la plus probable pour expliquer la résistance à chacune des deux races.

Discussion

Des résultats des inoculations des croisements réalisés au Paraguay et à Montpellier, il est raisonnable de conclure que la résistance foliaire totale à la race 18 provenant de l'Allen et du N'Kourala sont identiques et d'origine monofactorielle. Ceci explique que la race apparue récemment ait pu surmonter à la fois ces deux résistances.

Les croisements où intervient la variété nord-américaine de références 101-102B indiquent que, là aussi, on est en présence d'une résistance monofactorielle, homologue des deux précédentes.

Ces résultats ne sont pas en accord avec les études réalisées au Soudan et en Afrique Centrale (16), mais, comme cela a déjà été indiqué dans l'introduction, on peut légitimement avoir des doutes sur certains résultats, car il est vraisemblable qu'il existait déjà des races possédant une gamme de virulence importante. BRINKERHOFF (2) en particulier, a mis en évidence, dès 1958, une race ougandaise virulente sur tous les gènes majeurs testés (qui correspondrait à la race 18 actuelle). L'existence de races différentes a ainsi pu fausser le résultat des analyses des ségrégations.

Les résultats obtenus au Soudan n'ont d'ailleurs pas été confirmés, à la même époque, en Afrique de l'Est. En outre, le déterminisme monogénique de la résistance de la variété W296 (issue de l'Allen) a déjà été suggéré par INNES en 1965 (13), c'est aussi la conclusion des résultats récents obtenus par WALLACE et EL-ZIK (20) au Texas pour la résistance de S295 à la race 18. Pour la variété Im 216 (dérivée de 101-102B), BRINKERHOFF et VERHALEN (4) supposent également un déterminisme monogénique pour la résistance totale mais envisagent la présence d'un second gène donnant seulement une résistance partielle, ce qui n'a pas été étudié ici où seulement la résistance totale a été considérée. Il est en effet certain, qu'à côté de ce gène majeur dominant, existent des gènes mineurs donnant une résistance partielle très variable. Cette variabilité est facile à mettre en évidence avec la nouvelle race capable de surmonter la résistance totale à la race 18, certaines variétés (BJA592, SR1F4, variétés Tamcot) conservent une résistance partielle assez bonne, d'autres (J193, 101-102B) sont plus sensibles.

En ce qui concerne la résistance à la nouvelle race trouvée dans la lignée S295, les résultats des quatre

croisements réalisés vont tous dans le même sens et la conclusion est identique. Tout se passe comme si la résistance à la nouvelle race ségrégeait comme le facteur de résistance à la race 18, soit qu'il s'agisse de deux gènes majeurs très fortement liés, soit qu'un gène mineur, également fortement lié au gène de résistance à la race 18, ait modifié et intensifié le comportement de ce dernier.

La seconde hypothèse semble plus probable, pour diverses raisons :

- il n'a pas été observé de recombinants « sensible à la race 18, résistant à la nouvelle race », mais on peut objecter que le nombre de plants étudiés est insuffisant pour obtenir des recombinants si la liaison est très forte ;

- aucun des parents de S295 ne possède de résistance totale à la nouvelle race, c'est donc bien une réorganisation génétique - et non pas une simple transmission de caractère - qui est à l'origine de la résistance à cette nouvelle race ;

- à l'appui de cette hypothèse, il faut mentionner également les travaux d'ARNOLD et BROWN (1). Ces derniers n'ont pas retrouvé, en Afrique de l'Est, les ségrégations simples décrites au Soudan et en Afrique Centrale ; ils considèrent la bactériose comme résultant de l'interaction de l'environnement et de deux mécanismes génétiques polygéniques : l'un déterminant la virulence du pathogène et l'autre la résistance de l'hôte. Pour ces auteurs, ce serait la pression de sélection exercée sur le cotonnier qui permettrait l'accumulation de gènes mineurs pouvant, dans certains cas, former des linkats et ségréger comme des gènes individualisés. INNES, BROWN et WALKER (14) ont repris cette hypothèse et pour la variété 101-102B parlent de la création d'un « Supergène » conférant la résistance totale à la race 18. Il est, en effet, à noter que la variété 101-102B vient du croisement de deux variétés possédant seulement une résistance partielle : BAR 4/16 (*G. barbadense*), avec théoriquement B2B3 et Empire WR (*G. hirsutum*), avec un complexe de gènes mineurs.

Il est donc vraisemblable qu'il existe un ou des sites privilégiés où s'opèrent des réorganisations génétiques conduisant à la résistance totale. En l'état actuel de nos connaissances, c'est l'explication la plus plausible et la plus simple de la résistance de S295 à toutes les races actuellement connues de *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*.

Conclusion

L'intérêt de ces résultats réside dans l'application pratique que l'on peut en faire. Les résultats montrent que si on utilise la lignée S295 comme source de résistance totale à la nouvelle race, la résistance est dominante et se transmet comme si elle était monogénique.

En sélection généalogique, on peut donc obtenir des lignées homozygotes pour cette résistance dès la F₃. Si

on réalise des croisements de retour dès la F₁, en éliminant les 50% de plants sensibles à chaque génération, il est possible d'introduire cette résistance dans une variété commerciale en quatre ou cinq ans.

En outre, l'existence d'une forte liaison entre les résistances aux races 1 à 18 et à la nouvelle race, si on travaille avec S295, permet de ne réaliser qu'une seule

inoculation avec la nouvelle race et non plus deux (avec la race 18, puis avec la nouvelle race), comme cela avait été préconisé auparavant (8). Le travail de sélection est donc simple et devrait aboutir rapidement à la création de nouvelles variétés commerciales totalement résistantes à l'ensemble des races actuellement connues.

Le problème posé reste cependant celui de «l'espérance de vie» de cette nouvelle résistance. Si elle doit se révéler aussi longue que celle qui a prévalu pour la race 18 (seulement surmontée sur le continent africain), l'opération est rentable; si elle est surmontée dans un proche avenir, ce sera un échec.

On ne possède malheureusement pas la réponse à cette question et on ne peut qu'encourager les sélectionneurs qui ont débuté une sélection de type récur-

rent à poursuivre leur effort, au moins pour deux raisons:

- si cette résistance est rapidement surmontée, peut-être faudra-t-il renoncer à obtenir la résistance totale et cultiver des variétés possédant seulement une résistance partielle, la plus élevée possible? La sélection récurrente est le meilleur moyen d'y parvenir.

- La sélection récurrente favorise l'accumulation de gènes mineurs, pouvant conduire à la formation de nouveaux linkats se comportant comme des «gènes» majeurs, si la théorie exposée précédemment est exacte. A l'appui de cette dernière, on peut remarquer que ce n'est peut-être pas un hasard si la lignée S295 a été trouvée au Tchad où la sélection récurrente est pratiquée depuis fort longtemps.

Références bibliographiques

1. ARNOLD M.H.; BROWN S.J., 1968. — Variation in the host-parasite relationship of a crop disease. *J. Agr. Sci.*, 71, 19-36.
2. BRINKERHOFF L.A., 1963. — Variability of *Xanthomonas malvacearum*: the cotton bacterial blight pathogen. *Okla. Agr. Exp. sta., Techn. bull.*, T98, 96 p.
3. BRINKERHOFF L.A., 1970. — Variation in *Xanthomonas malvacearum* (E.F. Smith) Dow. *Ann. Rev. Phytopath.*, 8, 85-109.
4. BRINKERHOFF L.A.; VERHALEN L.M., 1976. — Inheritance of immunity to bacterial blight in an Upland cotton cross. *Proc. Belt. Cott. Pr. Res. Conf.*, Las Vegas, 31.
5. CROSSE J.E., 1963. — Pathogenicity differences in Tanganyika populations of *Xanthomonas malvacearum*. *Emp. Cott. Grow. Rev.*, 40, 125-130.
6. FOLLIN J.C., 1983. — New races of *Xanthomonas malvacearum* virulent to the B2B3 gene combination in *G. hirsutum*. *Proc. Belt. Cott. Pr. Res. Conf.*, San Antonio, 5.
7. FOLLIN J.C., 1983. — Races de *Xanthomonas campestris* p.v. *malvacearum* en Afrique de l'ouest et en Afrique centrale. *Cot. fib. trop.*, 38, 3, 274-279.
8. FOLLIN J.C., 1984. — Need of a new strategy concerning the selection of resistant varieties in Africa. *Proc. Belt. Cott. Pr. Res. Conf.*, 4.
9. FOLLIN J.C., 1987. — La sélection du cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) pour la résistance aux maladies présentes en Afrique au sud du Sahara. *Cot. fib. trop.*, Série Documents Etudes et Synthèses, 30 p.
10. GIRARDOT B.; HEQUET E.; YEHOUESSI M.T.; GUIBORDEAU P., 1986. — Mise en évidence d'une variété de *Gossypium hirsutum* L. résistante aux souches de *Xanthomonas campestris* p.v. *malvacearum* (Smith) Dye virulentes sur les associations de gènes majeurs (B2B3 ou B9LB10L). *Cot. fib. trop.*, 41, 67-69.
11. GIRARDOT B.; FOLLIN J.C., 1987. — Premiers résultats sur le déterminisme génétique de la résistance du cotonnier à la nouvelle race de *Xanthomonas campestris* p.v. *malvacearum*. *Cot. fib. trop.*, 42, 2, 139-140.
12. HUNTER R.E.; BRINKERHOFF L.A.; BIRD L.S., 1968. — The development of a set of Upland cotton lines for differentiating races of *Xanthomonas malvacearum*. *Phytopath.*, 58, 830-832.
13. INNES N.L., 1965. — Inheritance of resistance to bacterial blight of cotton. I. Allen (*Gossypium hirsutum*) derivatives. *J. Agr. Sci.*, 64, 257-271.
14. INNES N.L.; BROWN S.J.; WALKER J.T., 1974. — Genetical and environmental variation for resistance to bacterial blight of Upland cotton. *Heredity*, 32, 1, 53-72.
15. INNES N.L., 1983. — Bacterial blight of cotton. *Biol. rev.*, 58, 157-176.
16. LAGIERE R., 1959. — La bactériose du cotonnier. *Xanthomonas malvacearum* (E.F. Smith) Dowson, dans le monde et en République Centrafricaine. *IRCT éd.*, Paris, 252 p.
17. PARLEVLIET J.E., 1983. — Can horizontal resistance be recognized in the presence of vertical resistance in plants exposed to a mixture of races? *Phytopath.*, 63, 379.
18. THAXTON P.; BIRD L.S.; EL-ZIK K.M., 1983. — Variability for resistance to new races of *X. malvacearum*. *Proc. Belt. Cott. Pr. Res. Conf.*, San Antonio, 6-7.
19. VERMA J.P.; BORKAR S.G., 1984. — Reaction of mixed races of *Xanthomonas campestris* p.v. *malvacearum* (E.F. Smith) Dye. *Curr. Sci.*, 53, 930.
20. WALLACE T.P.; EL-ZIK K.M., 1987. — Inheritance of resistance to a new strain of the bacterial blight pathogen in Upland cotton. *Proc. Belt. Cott. Pr. Res. Conf.*, Dallas, 557.

New results on inheritance of immunity to bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (Smith) Dye, race 18 and 20) in the cotton plant (*Gossypium hirsutum* L.)

J.C. Follin, B. Girardot, V. Mangano and R. Benitez

Summary

Study of segregation of immunity to race 18 and race 20 (a new African race) in the progeny of 17 crosses carried out in Paraguay and in France indicates that for these two races, resistance is dominant and segregates as a single factor.

It was not possible to separate these two factors of resistance in crosses involving line S295 which is resistant to both races. Resistance to race 20 possibly comes from the strengthening of resistance to race 18 by the addition of a minor gene and the formation of a new group of gene segregating like a single gene.

KEY WORDS : cotton plant, bacterial blight, inheritance of immunity, races 18 and 20

Introduction

A new strain of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* appeared in different regions of Africa in the early 1980s; it can be considered to be strain 20 according to the range of differential hosts used in the United States (6, 7, 12, 18).

This new strain can overcome the total leaf immunity to bacterial blight of all the commercial varieties of Upland cotton from all over the world that we tested, and has made it necessary to investigate once again a problem which was considered as having been finally solved.

A cultivar which possessed total resistance to this strain was found in Chad in 1985 (10, 11); transmission of resistance to commercial cultivars required study of its genetic inheritance compared to that of resistance to strain 18 which we considered it necessary to re-examine. Indeed, the remarkable results obtained in practice, with the creation of totally resistant cultivars, should not mask the weakness of the theoretical explanations that are sometimes proposed.

There is an obvious contradiction between the clear but simplified syntheses (3, 9, 15) and the original publications which often lead to a feeling of confusion for several reasons:

- there are very great differences between interpreta-

tions of the results obtained in the Sudan, East Africa and Central Africa;

- the breeding programmes carried out in Africa have not taken into account the possibility of variation of the pathogen, although this has been suspected (15) or demonstrated (2,5);

- mixes of strains are sometimes used for artificial inoculations. This can be criticized since it carries a risk of crossed protection in cases of inoculation in the greenhouse on a specific point of the plant. This prevents a normally virulent strain from expressing itself if it is associated with an avirulent strain which induces a resistant reaction (19). Mixed strain field inoculations lead to irregular distribution of «active» inoculum according to the plants if there are several major resistance genes in the population. The latter point is not a problem if only total resistance is sought, but it can falsify results in the case of quantification of partial resistance for breeding or for analysis of genetic determination (17).

These three main factors led us to not considering any result as definitive and to carry out our investigation with maximum control of external conditions. We also eliminated personal interpretation by keeping to observation of total resistance.

Material and methods

All results were obtained after syringe inoculation of cotyledon leaves of 8 to 10 days old seedlings with a dense suspension of bacteria of a known strain. The cotton plants were kept in a greenhouse or in a controlled environment (room with air temperature set at 30°C with 12 h light and 12 h darkness).

Race 18 and the new African strain were used. In the experiments carried out in Montpellier, both strains were inoculated in the same plant, each in a different cotyledon. Race 18 inoculated in Paraguay had been isolated *in situ* whereas the strains used in Montpellier were from Burkina Faso.

Evaluation was carried out seven days after inoculation and was of the «hit or miss» type: plants were considered to be resistant (hypersensitivity reaction) or sensitive (greasy patches) to the strain in question. Doubtful cases (no hypersensitivity reaction and no bacterial growth) were rare and were subjected to a second inoculation. No bacterial development was observed around the periphery of the hypersensitivity reaction.

Resistance of cultivar 271-6 (Paraguay) to strain 18 comes from BTK12 (Central Africa) and hence from N'Kourala, an old Mali variety. It is classically attributed to B2B3 (16). The resistance of Reba P279 (Para-

guay), of the SP510 × P279 line (Paraguay) and of the variety Guazuncho (Argentine) was inherited from Allen (Nigeria) via Reba B50 (Central Africa) and has been attributed to the genes B9L and B10L (16). Finally, resistance of the North American cultivar 101-102 B is from the crossing of *G. barbadense* Bar 4/16 with Empire WR and is attributed to the association of B2B3.

Line S295 (PAN 575 × SR1 F4 × J193) was bred in Chad; it is resistant to strain 18 and also to the new strain (10).

Cultivars T 120-7 (Côte-d'Ivoire), Deltapine 26 and 41 (United States) are sensitive to all strains.

Results

Paraguay

Only strains 1 to 18 exist in Paraguay and the varieties which were resistant in Africa are also resistant here as in the rest of America. Thus only strain 18 was used in the studies carried out in an unheated greenhouse during a comparatively cool period (outdoor temperature 10-25°C).

All F₁ generations were totally resistant.

Table 1 shows the results of inoculation carried out in 1984 and 1985. χ^2 were calculated assuming that resistance was determined by a dominant gene, thus distributed 3/1 for the F₂ and 1/1 for the test crosses.

With 1 degree of freedom, χ^2 were all below the chosen threshold of P 0.05. Only the two crosses (B50 × L299-10) × Deltapine 26 and Reba P279 × Deltapine 41 seemed less reliable.

The single factor hypothesis was almost certainly verified in the two cases where analysis of back crosses was available.

Homogeneity χ^2 for the six F₂ was 9.29 with 5 degrees of freedom it is below the P 0.05 threshold; in fact a single cross (B50 × L299-10) × Deltapine 26 accounted for 70% of the value of this χ^2 . It was therefore possible to group the results: this gave 2200 resistant and 691 sensitive seedlings ($\chi^2 = 1.8$), i.e. 76.1 and 23.9% respectively.

The χ^2 of homogeneity of the two back crosses was 0.6 (0.30 < P < 0.50); grouping the results gave 419 resistant (R) and 383 sensitive (S) plants ($\chi^2 = 1.5$), i.e. 52.2 and 47.8%.

It should also be noted that the Guazuncho × 271-6 cross did not give any sensitive plants, thus indicating probable homology of «B2B3» and «B9LB10L».

Montpellier

Crosses carried out and inoculated in Montpellier

F₁ seedlings were resistant to the two strains. Results of F₂ and test-crosses were precise and the χ^2 obtained, still using the hypothesis of dominant single factor resistance, were all lower than the probability P = 0.05 chosen (Table 2). The following remarks can be made:

1- monogenic resistance of strain 18 was confirmed:

2- resistance of S295 to the new strain is probably also dominant and monogenic;

3- only parental phenotypes were found with no recombinations. In particular, no plants resistant to the new strain and sensitive to strain 18 were found in crosses S295 (RR⁺) × T 120-7 (SS⁻) and (S295 × T 120-7) × T 120-7. The determinant factors of these two resistances are thus very closely connected.

Crosses carried out in Paraguay and inoculated in Montpellier

For obvious reasons of security, seedlings from crosses carried out in Paraguay were inoculated in Montpellier.

The results of crossing resistant to both strains with sensitive to both strains (S295 × Deltapine 41) were in conformity with those obtained from crosses carried out in Montpellier.

Resistance to the two strains was segregated as if it were a single factor, no recombinations were found; the two χ^2 were below the P 0.05 threshold (Table 3).

The results were not as good for F₂ of the cross resistant to the two strains × resistant to strain 18 (S295 × P 279). There was a distinct majority of plants sensitive to strain 20. This result would appear to agree with the hypothesis of two linked genes, but the results of the crossing of F₁ with the bottom recessive Deltapine 41 do not confirm this hypothesis. There were no recombinations in the latter cross either (sensitive to strain 18, resistant to the new strain).

Table 4 shows the results for the eight crosses inoculated in Montpellier with separation of resistance to strain 18 and to strain 20.

The χ^2 of homogeneity of F₂ of crosses of plants resistant to strain 20 × plants sensitive to strain 20 was 2.97 (0.30 < P < 0.50 with 3 degrees of freedom); it was 0.98 for the resistant to strain 18 × sensitive to strain 18 crosses (0.30 < P < 0.50 with 1 degree of freedom); the two χ^2 of homogeneity for the corresponding test-crosses were 1.23 (0.70 < P < 0.80 with 3 degrees of freedom) and 0.025 (0.80 < P < 0.90 with 1 degree of freedom).

These groupings confirm that the hypothesis of single factor determinism is the most likely to account for resistance to each of the two strains.

Discussion

The results of inoculation of crosses carried out in Paraguay and in Montpellier show that it is reasonable to conclude that total leaf resistance to strain 18 of Allen and N'Kourala are identical and have a single factor cause. This explains why the recent strain was able to overcome both resistances.

Crosses involving the North American variety 101-102B showed that resistance was also single factor and homologous with the two preceding cases.

These results do not agree with studies carried out in the Sudan and in Central Africa (16) but, as was mentioned in the introduction, there can be legitimate doubt of certain results since it is probable that strains with a considerable range of virulence already existed. BRINKERHOFF (2) in particular showed in 1958 that there was a Uganda strain which was virulent for all the major genes tested (this would correspond to the present strain 18). The existence of different strains may thus have interfered with the result of analysis of segregation.

At the time, the results in the Sudan were not confirmed in East Africa. In addition, monogenic determinism of the resistance of cultivar W296 (descendant of Allen) was suggested by INNES in 1965 (13). This was also the conclusion of the recent results obtained by WALLACE and EL-ZIK (20) in Texas for the resistance of S295 to strain 18. BRINKERHOFF and VERHALEN (4) also supposed that determinism was monogenic for overall resistance in the variety Im 216 (derived from 101-102B), but envisaged the presence of a second gene giving only partial resistance which was not studied here where only total resistance was considered. Indeed, it is certain that in addition to this dominant major gene there are minor genes which give very variable partial resistance. This variability is easily shown with the new strain capable of overcoming the overall resistance of strain 18. Some varieties (BJA 592, SR1F4, Tamcot varieties) conserve fairly high partial resistance whereas others (J193, 101-102B) are more sensitive.

With regard to the resistance of line S295 to the new strain, the results of four crosses are similar and lead to the same conclusion. It is as if resistance to the new

strain were segregated as a factor of resistance to strain 18 with two very closely connected major genes or with a minor gene also strongly linked with the gene resistant to strain 18 which modifies and intensifies the behaviour of the latter gene.

The second hypothesis appears to be more probable for various reasons:

- no recombinations «sensitive to strain 18 and resistant to the new strain» have been observed, but it can be objected that too small a number of plants was studied to obtain recombinations if the linkage is very strong;

- none of the parents of S295 possess total resistance to the new strain; hence genetic reorganisation and not simple transmission of a character is the base of resistance to the new strain;

- the work of ARNOLD and BROWN (1) should also be mentioned in support of this hypothesis. These authors did not observe in East Africa the simple segregations described in the Sudan and Central Africa; they considered bacterial blight to be the result of interactions between the environment and two polygenic genetic mechanisms, one determining the virulence of the pathogen and the other determining the resistance of the host. They were of the opinion that the pressure of selection on the cotton plant would allow «the accumulation of polygenes at several loci into a complex which under certain conditions segregates in Mendelian fashion» (13). INNES, BROWN and WALKER (14) took up this hypothesis and spoke in terms of the creation of a «supergene» giving cultivar 101-102B total resistance to strain 18. It should indeed be noted that 101-102B descends from a cross between two varieties which only possess partial resistance: BAR 4/16 (*G. barbadense*), theoretically possessing B2B3 and Empire WR (*G. hirsutum*) with a complex of minor genes.

It is therefore probable that there are one or several special areas in which genetic reorganisation leads to total resistance. In the present state of knowledge, this is the simplest and most plausible explanation for the resistance of S295 to all the strains known today of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*.

Conclusion

The interest of these results lies in their possible practical application. They show that if line S295 is used as a source of total resistance to the new strain this resistance is dominant and is inherited as if it were monogenic. It is therefore possible with genealogical selection to obtain homozygotic lines for this resistance from generation F3 onwards. If back-crosses are carried out from F1 onwards with elimination of the 50% sensitive plants in each generation, it is possible to introduce the resistance in a commercial cultivar in four or five years.

In addition, the strong connection between resistance to strains 1 to 18 and to the new strain (if work is carried out using S295), makes it possible to use only one inoculation and not two (with strain 18 and then the new race) as previously recommended (8). Selection work is therefore simple and should rapidly lead to the creation of new commercial varieties which are totally resistant to all the strains known today.

There remains nevertheless the problem of the «life

expectancy» of this new resistance. The operation will be profitable if this is as long as that of resistance to strain 18 (only overcome in Africa); if it is overcome rapidly it will be a failure.

Unfortunately, we have no reply to this question and we can only encourage breeders who have started recurrent selection to continue their efforts for at least two reasons:

- If the resistance is rapidly overcome, might it not be desirable to give up trying to obtain total resistance and cultivate varieties with as high a partial resistance as possible? Recurrent selection is the best way to achieve this.

- If the theory described above is correct, recurrent selection encourages the accumulation of minor genes which can lead to the forming of new linkages which behave like «major» genes. It is pointed out in support of this that it is not an accident if line S295 was found in Chad where recurrent selection has been carried out for a very long time.

Nuevos resultados sobre el determinismo genético de la inmunidad del algodónero a la mancha angular

J.C. Follin, B. Girardot, V. Mangano and R. Benitez

Resumen

El estudio de la segregación de la inmunidad a la raza 18 y a la raza 20 (nueva raza africana) en la descendencia de 17 cruzamientos llevados a cabo en Paraguay y en Francia indica que para ambas razas la resistencia es dominante y segrega como un factor único.

Estos dos factores de resistencia no han podido ser desunidos en los cruzamientos que implican la descendencia S295, resistente a ambas razas. Es probable que la resistencia a la raza 20 procede del fortalecimiento de la resistencia a la raza 18 con la adición de un gene menor y la formación de un nuevo grupo de gene que segrega como un gene único.

PALABRAS CLAVE algodónero, mancha angular, determinismo genético de la inmunidad, razas 18 y 20.