

FACTEURS INFLUENCANT LA MICROTUBERISATION DE TROIS VARIETES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum* L.) : CARDINAL, DESIREE ET ELVIRA

KHELIFI-SLAOUI M., KHELIFI L., DJENNANE S. et KHELIFATTI N.

LABORATOIRE DES RESSOURCES GENETIQUES ET BIOTECHNOLOGIES

Institut National Agronomique , El-Harrach , 16200 Alger.

RESUME

Ce travail porte sur les facteurs susceptibles d'influencer la microtubérisation de trois variétés (CARDINAL, DESIREE et ELVIRA) de pomme de terre (*Solanum tuberosum*). Les résultats obtenus montrent que les facteurs étudiés (sucre, cytokinine « BAP » et inhibiteur de croissance « CCC ») exercent un effet significatif sur le rendement et le calibre des tubercules ainsi que sur leur qualité. En effet, les trois éléments agissent favorablement mais différemment sur les paramètres précédents. Ainsi, pour le sucre et la BAP les concentrations optimales sont respectivement de 80 g/l, et 5 à 7.5 mg/l. Quant au CCC même s'il ne semble pas présenter d'effet immédiat sur le nombre et la qualité des microtubercules, il joue néanmoins, un rôle important au niveau de leur dormance.

Mots clés : BAP, CARDINAL, CCC, DESIREE, ELVIRA,
MICROTUBERISATION, POMME DE TERRE SUCRE,
SOLANUM TUBEROSUM.

SUMMARY

This work carries on factors susceptible to influence the microtuberization of three potato varieties (CARDINAL, DESIREE and ELVIRA). The gotten results show that the studied factors (sugar, cytokinine « BAP » and growth inhibitory « CCC ») exercise a meaningful effect on the yield and the caliber of tubers and on their quality. Indeed, the three factors act favorably but differently on the previous parameters. Thus, for sugar and the BAP the optimal concentrations are respectively 80 g/l, and 5 to 7.5 mg/l.

As for the CCC even though it doesn't seem to present immediate effect on the number and the quality of microtubers, bat, it plays an important role in the level of their dormancy.

Key words : BAP, CARDINAL, CCC, DESIREE, ELVIRA, MICROTUBERIZATION, POTATO, SUGAR. SOLANUM TUBEROSUM.

INTRODUCTION

En raison de son utilisation quotidienne dans l'alimentation et de la forte croissance démographique, la demande en pomme de terre dans notre pays, ne cesse d'augmenter sans que le volume de la production locale ne connaisse d'évolution sensible, si bien que l'on est amené à recourir à des importations fortes et coûteuses pour combler le déficit qui en résulte ; solution qui ne peut durer longtemps. Les pays fournisseurs de semences, ne nous fournissent pas, toujours, des semences répondant aux qualités demandées, aux conditions écologiques du pays et au moment voulu. Celles-ci peuvent en outre être utilisées comme moyen de pression politique. La production de semences de pomme de terre, localement, est donc une nécessité absolue.

De nos jours, les cultures *in vitro* constituent un « outil » puissant pour palier à ce problème. En effet, grâce à cet outil, on peut disposer de semences saines, conformes aux variétés retenues en un temps très réduit. De plus les cultures *in vitro*, représentent un moyen efficace et rapide, pour la création de nouvelles variétés plus adaptées à nos conditions climatiques. En outre, l'utilisation des vitrotubercules en tant que semences va à l'avant des problèmes liés au stockage, à la conservation et au transport des tubercules de semence.

La présente étude porte essentiellement sur la microtubérisation de trois variétés de pomme de terre : CARDINAL, DESIREE et ELVIRA. L'objectif est de maîtriser cette technique en optimisant le rendement en microtubercules qui seront destinés à être utilisés ultérieurement comme semence de pré base.

MATERIELS ET METHODES

L'expérimentation a porté sur des vitroplants de deuxième génération de trois génotypes (CARDINAL, DESIREE et ELVIRA) fournis par le laboratoire de culture "in vitro" de l'ITCMI - STAOUALI. Ces vitroplants sont âgés d'environ 45 jours d'où le début de leur jaunissement et la chute de quelques unes de leur feuilles.

Le milieu de culture utilisé (macro + microéléments + vitamines) est celui de MURASHIGE et SKOOG, (1962), milieu préconisé par plusieurs auteurs (GAMBORG et al, 1976 ; HUSSEY et STACEY, 1981, 1984 ; AMIROUCHE et al, 1985 ; FORTI et al, 1991; ESPINOZA et al, 1992 ; LECLERC et al, 1995). Pour la microtubérisation, l'influence de 3 paramètres est étudiée : concentrations de sucre, de BAP et de CCC selon le protocole expérimental ci dessous tableau 1.

Le choix des concentrations des éléments fixes est fait sur la base des travaux de plusieurs auteurs (LE, 1990, 1993; HAVERKORT et al, 1991 ; CLAASSEN et al, 1992 ; CHARLES et al, 1993; LECLERC et al, 1994 ; RANALLI et al, 1994 a et b ; LECLERC et al, 1995). Les milieux définitifs dont le pH est ajusté à 5.6 sont répartis dans des fioles de 500 ml puis stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

La microtubérisation a lieu sur des microboutures à un noeud dans les conditions physiques suivantes : Photopériode : 1ère semaine 16 h/jour ; 2ème semaine. 8 h/jour ; à partir de la 3ème semaine obscurité totale. La température de culture est de : $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. La densité de culture est de 9 microboutures par flacon. Le nombre de répétition est de 18 explants par traitement.

Les observations portant sur le pourcentage de microtubérisation et le nombre de microtubercules par plantule sont effectuées chaque semaine. Concernant le diamètre, le poids frais, le poids sec et le pourcentage de matière sèche, le nombre de répétitions n'est que de 6 explants par traitement, car ces paramètres sont destructifs du matériel biologique. Les observations concernant ces quatre derniers paramètres sont effectuées après deux mois de culture.

Tableau 1 : Protocole expérimental concernant les 3 facteurs étudiés (Sucre, BAP et CCC).

Eléments Communs	Eléments fixes	Eléments étudiés	Concentrations				
Macro + Micro Eléments + Vitamines De MS (62)	BAP (2.5 mg/l) CCC (500 mg/l)	Sucre (g/l)	0	30	60	80	100
	Sucre (80 g/l) CCC (500 mg/l)	BAP (mg/l)	0	2.5	5	7.5	10
	Sucre (80 g/l) BAP (2.5 mg/l)	CCC (mg/l)	0	250	500	1000	1500

RESULTATS

La disponibilité du sucre, comme source d'énergie dans le milieu de culture, est indispensable pour la microtubérisation, des trois variétés étudiées. Cet élément intervient aussi bien au niveau du rendement que du diamètre des microtubercules. L'optimum (rendement par bouture et diamètre) est obtenu avec les concentrations de 80 et 100 g/l pour les variétés CARDINAL et ELVIRA (fig. 1-I-B-C).

Pour la variété DESIREE, la présence de sucre dans le milieu est également indispensable, mais la concentration de celui-ci n'a pas d'effet significatif au niveau du résultat final. Il faut, cependant, signaler que si la concentration n'exerce pas d'effet significatif, au niveau du résultat final, elle influence néanmoins la vitesse de tubérisation. En effet, cette dernière est d'autant plus rapide que le milieu est riche en sucre.

Dans les conditions optimales, les premiers microtubercules apparaissent dès le quatrième jour de culture pour la CARDINAL, alors que pour de nombreuses autres variétés, la microtubérisation n'intervient qu'aux environs de la troisième semaine (LE, 1990). De nombreux auteurs s'accordent donc pour souligner le rôle capital du sucre, sur la microtubérisation (GARNER et JENNET BLAKE, 1989; LE, 1990, 1993; LECLERC et al, 1994). En effet, en absence de cette source d'énergie, la pomme de terre ne peut pas tubériser *in vitro* (quelles que soient les conditions photopériodiques). Ce phénomène est expliqué par la faiblesse ou l'absence de la photosynthèse *in vitro*, (ZRYD et al, 1988; MARGARA, 1989). Or, le tubercule est un organe de réserve qui emmagasine les substances élaborées (sous forme d'hydrates de carbone) au niveau du feuillage. L'incapacité des vitroplants à photosynthétiser est due au système stomatique très mal développé, d'où la nécessité d'enrichir le milieu en sucre. Cette hypothèse est confirmée par une tubérisation plus intense en phase de culture obscure (absence totale de photosynthèse).

Les microtubercules des trois variétés, ont deux origines différentes. Ils prennent naissance, soit directement au niveau du bourgeon axillaire préexistant, soit à l'extrémité des stolons (après leur formation durant la phase obscure de culture). Lorsque les microtubercules sont formés à l'extrémité des stolons, ils peuvent avoir deux positions possibles, vis-à-vis du milieu de culture, immergée ou émergée. Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par de nombreux auteurs (LE, 1993; SEABROOK et al, 1993).

Le diamètre et le poids frais des microtubercules s'accroissent parallèlement avec l'augmentation de la concentration de sucre (Fig. 1-I-C-D). Ces deux paramètres atteignent leur maximum avec les concentrations

de 80 et 100 g/l pour les trois variétés comme pour d'autres (LE, 1990, 1993).

Le taux de matière sèche dépend à la fois de la variété et de la concentration de sucre dans le milieu. Le taux de matière sèche est une caractéristique variétale (variétés industrielles sont riches en matière sèche). Concernant la variété DESIREE, la concentration de sucre n'a aucun effet sur le taux de matière sèche. Quant aux variétés CARDINAL et ELVIRA, le taux de matière sèche est d'autant plus élevé que la concentration de sucre dans le milieu est élevée. Les taux les plus élevés sont obtenus aux concentrations de 80 et 100g/l. Cet effet favorable de la concentration de sucre sur le pourcentage de matière sèche peut être expliqué par la théorie osmotique. Le milieu de culture étant très concentré limiterait l'absorption de l'eau par la plante, d'où un taux de matière sèche plus élevé au niveau des microtubercules (fig.1-I-E).

L'action favorable de la BAP sur la microtubérisation est une certitude (VERHOYEN et GIVRON, 1981 ; HUSSEY et STACEY, 1984 ; ALIOUANE, 1989 ; YAHIA-MESSAOUD, 1992). Cette action peut cependant être, elle aussi, une caractéristique variétale. En effet, la variété CARDINAL tubérise même en absence totale de BAP (100% de tubérisation), alors que les variétés DESIREE et ELVIRA atteignent à peine 10 % de tubérisation en son absence. La concentration optimale de BAP est de 7,5 mg/l pour ces deux dernières variétés. L'excès de BAP dans le milieu peut avoir un effet inverse en réduisant le taux de microtubérisation, cas de la variété ELVIRA (fig.1-II-A).

Le diamètre des microtubercules est également sous l'influence de la variété et de la concentration de BAP dans le milieu. La présence de BAP n'a pas d'effet important sur le diamètre des microtubercules chez la variété CARDINAL. Cependant, les meilleurs diamètres sont obtenus avec la concentration de 7,5 mg/l pour les variétés DESIREE et ELVIRA. Cette différence entre variétés peut être expliquée par la forme du microtubercule. Les microtubercules de la variétés DESIREE sont plutôt allongés, d'où leur faible diamètre (fig.1-II-C). Cette propriété est confirmée par les poids frais obtenus chez cette variété. En effet, les poids frais les plus élevés sont obtenus en présence de BAP, 2,5 mg/l, 5 mg/l et 7,5 mg/l respectivement, pour DESIREE, CARDINAL et ELVIRA. L'excès de BAP (10 mg/l) entraîne l'effet inverse (fig.1-II-D). Selon HUSSEY et STACEY (1984), l'effet de la BAP peut aussi être influencé par les conditions de culture.

Il semble que la BAP exerce un effet plus favorable sur la microtubérisation en jours courts ou en obscurité. En effet, dans les conditions expérimentales du présent travail, les variétés DESIREE et ELVIRA, cultivées en présence de BAP tubérissent même après leur passage dans l'obscurité totale. La microtubérisation chez CARDINAL n'est cependant pas influencée par la photopériode. Ces résultats concordent

avec ceux de LE (1993) sur la variété BINTJE. La BAP présente, par ailleurs, un effet significativement favorable sur les taux de matière sèche des microtubercules, surtout chez les variétés CARDINAL et DESIREE. L'optimum est obtenu à la concentration de 5 mg/l (fig.1-II-E).

Le CCC est connu par ses effets inhibiteurs de certaines parties de la plante. Son utilisation *in vitro* permet, en revanche dans de nombreux cas, de favoriser le développement d'autres parties. Son addition au milieu de culture augmenterait le nombre de microtubercules chez certaines variétés (SLADKY et LADISLAVA 1990). Dans notre cas, le CCC ne présente aucun effet sur le nombre de microtubercules chez les variétés CARDINAL et DESIREE. Mais, il semble améliorer ce rendement chez la variété ELVIRA sauf à 1500 mg/l (fig.1-III-B). L'apport de CCC au milieu de culture diminue d'une manière générale, le diamètre des microtubercules conformément aux résultats d'autres auteurs (HUSSEY et STACEY, 1984 ; LE, 1990; LECLERC et al, 1994) (fig.1-III-C). D'une manière générale, le CCC entraîne aussi une chute considérable du poids frais (fig.1-III-D). La variété DESIREE reste indifférente à la présence de cet inhibiteur de croissance.

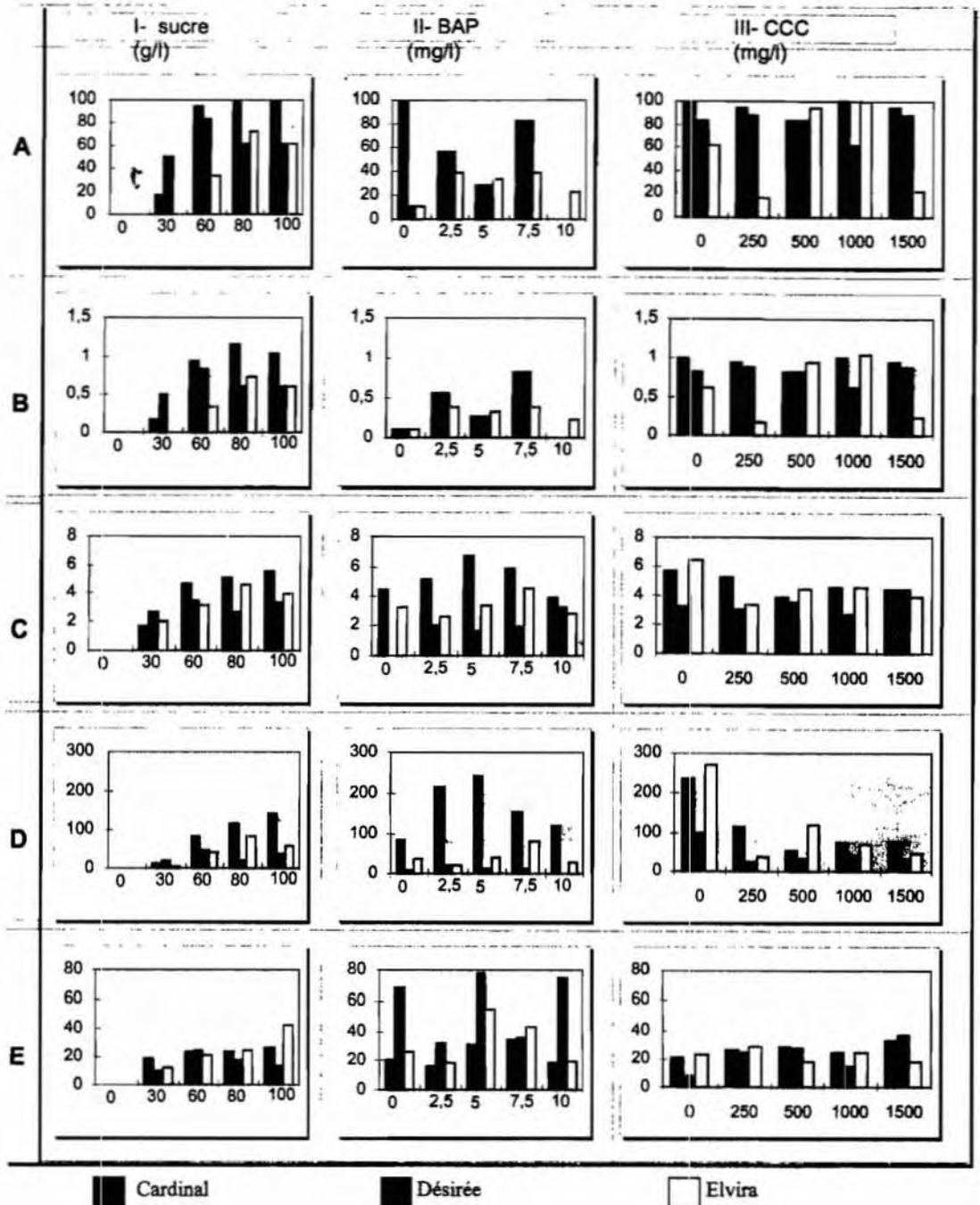


Figure 1- Effet des concentrations de sucre (I), de BAP (II) et de CCC (III) sur le pourcentage de microtubérisation (A), le rendement en microtubercules par explant (B), le diamètre (C), le poids frais (D) et le taux de matière sèche (E) des microtubercules de trois variétés de pomme de terre.

CONCLUSION

Il ressort des résultats obtenus, qu'il est possible d'induire une tubérisation chez les trois variétés de pomme de terre étudiées. Néanmoins, les résultats obtenus diffèrent selon les variétés et les facteurs testés.

1. Le sucre est un élément indispensable à la fois au développement végétatif des boutures et à la microtubérisation. Aux plus faibles concentrations, son action est favorable pour la croissance caulinaire et racinaire des vitroplants et défavorable pour la microtubérisation, surtout pour DESIREE et ELVIRA. La variété CARDINAL parvient à tubériser même avec 30 g/l. Aux plus fortes concentrations (60 à 100 g/l), la tubérisation est favorisée chez DESIREE et ELVIRA. L'augmentation de la concentration de sucre agit directement sur la qualité des microtubercules. Le taux de matière sèche est d'autant plus élevé que la concentration de sucre est élevée.
2. La BAP réduit le développement végétatif des trois variétés. Son action est plus marquée au niveau de la microtubérisation. Les meilleurs résultats sont obtenus aux concentrations de 5 à 7,5 mg/l. La variété CARDINAL tubérise néanmoins aussi bien en absence de BAP qu'en présence de celle-ci, même à 10 mg/l. Comme pour le sucre, le taux de matière sèche est influencé par la présence de BAP. Les microtubercules les plus riches en matière sèche sont obtenus avec des concentrations de 5 et 7,5 mg/l.
3. Le CCC réduit le développement végétatif. Son action sur la microtubérisation n'a pas été prouvée, sauf pour la variété ELVIRA pour laquelle il semble améliorer le rendement. L'effet de celui-ci est cependant plus marqué au niveau de la dormance des microtubercules produits. Les microtubercules induits en présence de CCC, surtout aux plus fortes concentrations ne présentent pas de dormance. Ils germent avant même d'être transférés sur un milieu de germination.

Les résultats présentés dans cette première partie de l'étude correspondent aux deux premiers mois de culture. Au delà, la tubérisation s'intensifie chez les trois variétés et de nombreuses boutures continuent à tubériser pour produire parfois 3 à 4 microtubercules. Leur diamètre ne cesse d'augmenter.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALIOUANE H., 1990 - Microtubérisation et essai de levée de dormance à partir de micropropagation *in vitro* de *Solanum tuberosum*. Var. NICOLAS. Thèse Ing. Etat Agr. INA Alger 62 p.
- AMIROUCHE L., STUCHBURY T., MATTHEWS S., 1985 - Comparisons of cultivar performance on different nutrient media in a routine method for potato micropropagation. *Potato Research* Vol 28 , n°4 , 1985 , pp 464-478 .
- CHARLE S G.,ROSSIGNOL L., ROSSIGNOL M., 1993 - A synchronous model perfecting for fundamental studies on the tuberization process. *J. Plant. Physiol.* Vol 142, pp 474- 479.
- CLAASSEN P.A.M, VAN CALKER M.H., MARINUS J., 1992 - Accumulation of sugars in microtubers of potato node cutting (CV kennebec) during cold storage. *Potato Research* 35 . 1992 , pp 191-194 .
- ESPINOSA N., LIZARRAGA R., SIGUENAS C., BUITRON F.,BRYAN J., DOODS J.H., 1992 - Tissue culture : Micropropagation, conservation and export of potato germplasm. *CIP Research guide* 1, 19 p .
- FORTI E., MANDOLINO G., RANALLI P., 1991 - *In vitro* tuber induction : influence of the variety and of the media. *Acta Horticultirae* 300 *in vitro*, pp 127- 132.
- GAMBORG O.L., MURASHIGE T., THOPE T.A, VASIL I.K, 1976 - Plant tissue culture media .IN-VITRO. Vol. 12, n°7, pp 473- 478.
- GARNIER N. JENNET BLAKE, 1989 - The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. *In annals of Botany* 63 pp 663- 674.
- HAVERKORT A J., VAN DE WAART M., MARINUS J., 1991 - Field performance of potato microtubers as propagation material. *Potato research* 34, pp 353- 364.
- HUSSEY G, STACEY N.J,1981 - *In-vitro* propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Bot.* 48, pp 787- 796
- HUSSEY G., STACEY N.J., 1984 - Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Botany* 53, pp 565- 578.

- LE CL., 1990 - Facteurs influençant la tubérisation *in-vitro* des microboutures de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. var Agria). Revue suisse agric. 22 (2), pp 115 - 116.
- LE CL., 1993 - Tubérisation *in-vitro* de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* L.var. Bintje). Revue suisse agric 25 (6), pp 365 - 367.
- LECLERC Y, DONNELLY D.J, SEABROOK J.E.A, 1994 - Microtuberization of layered shoots and nodal cuttings of potato : The influence of growth regulators and incubation periods. in Plant cell. Tissue and Organ culture 37, pp 113- 120.
- LECLERC Y., DONNELLY D.J., COLEMAN W.K, KING R.R, 1995 - Microtuber dormancy in three potato cultivars. American potato journal Vol. 72, pp 215- 223.
- RANALLI P., BIZARRI M., BORGHI L., MARI M., 1994a - Genotypic influence on *in-vitro* induction, dormancy length, advancing age and agronomical performance of potato microtubers. (*Solanum tuberosum* L.) Ann. appl. Biol, 125, pp 191- 172.
- RANALLI P., BASSI F., RUARD G., DELRE P., DICANDILO M., MANDOLINO G., 1994 b - Microtuber and minituber production and field and performance compared with normal tubers. Potato Research 37, pp 383- 391.
- SLADKY Z. et LADISLAVA, 1990 - In vitro induction of axillary potato microtubers and improvement of their quality. Biologia Plantarum (PRAHA), Vol 32 N°3, pp 181- 188.
- YAHIA MESSAOUD L., 1992 - Aptitude à la micotubérisation et à la callogénèse *in vitro* de la variété de pomme de terre "DIAMANT" Thèse Ing. Etat Agr. INA Alger 83 p.
- ZRYD J.P, 1988 - Cultures de cellules, tissus et organes végétaux fondements théoriques et utilisations pratiques. Ed. Presses techniques romandes, 308 p.