

## Tubérisation *in vitro* de la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* L. var. Bintje)

C. L. LÉ, Station fédérale de recherches agronomiques de Changins, CH-1260 Nyon

### Résumé

Des explants de nœuds (miniboutures) de pomme de terre (cv. Bintje) cultivés sur un milieu de base CMS (COLLET, 1985), en présence de 8% de saccharose et de différentes concentrations de benzyladénine (BA), ont été testés pour leur capacité de tubériser *in vitro*. L'influence du type de support de culture et de la photopériode sur la tubérisation a été également examinée.

terre de la variété Agria a été rendue possible par un contrôle précis des exigences énergétiques et du type de régulateur de croissance entrant dans la composition des milieux de culture.

Dans le présent travail, nous présentons un autre essai où l'on examine divers paramètres portant sur l'influence du type de support de culture, la teneur en régulateurs de croissance ainsi que sur celle de la lumière sur la capacité de tubériser des miniboutures *in vitro*.

(BA) allant de 11,1  $\mu\text{M}$  à 44,4  $\mu\text{M}$ . Le saccharose est apporté à la concentration de 8%, qui, selon les résultats obtenus auparavant avec la variété Agria (LÉ, 1990), nous a donné une meilleure tubérisation.

Pour la comparaison des types de support de culture, les explants sont cultivés, à l'obscurité, sur les trois milieux suivants:

- milieu liquide statique;
- milieu liquide agité (60 tours/min.);
- milieu solidifié avec 0,7% d'Agar (Difco-Bacto-Agar).

Le pH est ajusté à 5,7 avec du NaOH à 0,1 N avant l'autoclavage.

Les milieux sont stérilisés à l'autoclave pendant 15 minutes à 121 °C (1,1 kg/cm<sup>2</sup> de pression).

### Techniques expérimentales

#### Matériel végétal

Des miniplantes de la variété de pomme de terre Bintje cultivées *in vitro* selon la technique décrite auparavant (LÉ, 1991) sont utilisées dans cette étude.

#### Milieux de culture

Les explants (ou miniboutures) prélevés sur la miniplante *in vitro*, comportant chacun un bourgeon axillaire, sont cultivés sur un milieu de base CMS (COLLET, 1985). A ce milieu sont ajoutés 1,0 mg/l de thiamine, 0,5 mg/l de pyridoxine, 0,5 mg/l d'acide nicotinique, 1,0 mg/l de myo-inositol et diverses concentrations de benzyladénine

#### Conditions de culture

Afin de déterminer si la lumière peut influencer la capacité de tubériser des miniboutures, une partie des cultures sont placées dans une chambre de croissance dont la photopériode est de 8 heures par cycle de 24 heures, le restant est maintenu à l'obscurité pour tous les essais.

L'éclairage, dont l'intensité lumineuse est de 55  $\mu\text{mole/m}^2/\text{sec}$  au niveau des cultures, est fourni par des tubes fluorescents de 40 W (type Mazda/Aviva TFRS 65/AVI).

La température est de 20  $\pm$  1 °C le jour et 18  $\pm$  1 °C la nuit, cela pendant toute la période de l'essai.

### Introduction

L'utilisation de minitubercules produits *in vitro* se révèle actuellement être l'un des moyens pratiques et efficaces pour la propagation de matériel de base et la conservation des variétés de pomme de terre cultivées après assainissement (WANG et HU, 1982; CHANDRA *et al.*, 1988; LÉ et COLLET, 1985, 1988).

Les conditions de l'environnement de culture qui caractérisent l'aptitude à la tubérisation *in vitro* ont été ainsi examinées par plusieurs auteurs (PALMER et SMITH, 1969; LO *et al.*, 1972; HUSSEY et STACEY, 1984; TOVAR *et al.*, 1985), cela pour de nombreux génotypes (LENTINI et EARLE, 1991).

Dans un premier article (LÉ, 1990), nous avons montré que la tubérisation *in vitro* des miniboutures de pomme de

L'évaluation du pourcentage de tubérisation, de la grosseur moyenne des minitubercules produits par explant, ainsi que de leur poids frais, est réalisée sur la base de 16 à 20 explants par traitement. L'expérience a été répétée quatre fois.

## Résultats et discussion

### Influence de la teneur en benzyladénine

Comme le montre le tableau 1, la présence de la benzyladénine (BA) dans le milieu nutritif s'est révélée déterminante pour induire la tubérisation sur les miniboutures de pomme de terre Bintje cultivées *in vitro*. L'absence totale de régulateur de croissance ne permet pas, dans le cas présent, le développement de minitubercules, alors que l'adjonction de benzyladénine au milieu de culture entraîne une augmentation significative du pourcentage de tubérisation sur l'ensemble des explants expérimentés (fig. 1). Le meilleur développement, dans nos conditions, a été obtenu avec le traitement renfermant 11,1  $\mu\text{M}$  (2,5 mg/l) de BA, qui provoque une augmentation du taux de tubérisation de 97% sur les explants cultivés dans les mêmes conditions (tabl. 1). Ce fait semble être en accord avec celui rapporté précédemment sur les miniboutures des variétés d'Ulster Sceptre et Red Craigs Royal (HUSSEY et STACEY, 1984) et sur celle

Tableau 1. Influence de la concentration de benzyladénine (BA) sur la tubérisation des miniboutures de pomme de terre (cv. Bintje).

Concentration de benzyladénine ( $\mu\text{M}$ )	Tubérisation (%)	Diamètre des minitubercules (mm)	Poids frais moyen des minitubercules (mg)
Témoin (0)	0	0	0
11,1	97a	$3,40 \pm 0,14a$	$31,12 \pm 2,64a$
22,2	80b	$3,70 \pm 0,15a$	$33,27 \pm 3,05a$
44,4	22c	$3,56 \pm 0,16a$	$24,05 \pm 1,04b$

Les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p = 0,05$ ), selon le test de DUNCAN.

d'Agria (Lé, 1990). En revanche, à une concentration plus importante en BA (22,2  $\mu\text{M}$ ) (5,0 mg/l), on constate un fléchissement de la capacité de produire des minitubercules *in vitro* (80%), contrairement aux observations faites par WANG et HU (1982) sur les variétés Nohrin n° 1 et Kennebec. La plus forte concentration, soit 44,4  $\mu\text{M}$  (10 mg/l), provoque également une diminution importante de la capacité de tubérisation sur les miniboutures de pomme de terre Bintje (22% d'explants capables de former des minitubercules). Concernant le poids frais et la grosseur des minitubercules développés sur ces milieux, nous n'avons pas remarqué de différence importante entre les deux concentrations 11,1 et 22,2  $\mu\text{M}$  de BA; alors qu'à 44,4  $\mu\text{M}$ , un effet défavorable sur le poids moyen des minitubercules est nettement remarqué (tabl. 1). La réduction progressive du taux de tubérisation obtenue avec l'augmentation graduelle des concentrations en BA, dans nos conditions d'expérimentation, semblerait donc refléter un effet inhibiteur dû à une surconcentration en régulateur de croissance. PALMER et SMITH (1969) ont également signalé l'extrême sensibilité de la tubérisation sur des explants de germe de pomme de terre (cv. King of the Russet), en présence d'une forte concentration en BA.

### Influence du support de culture

L'examen des résultats présentés dans le tableau 2 montre que le milieu de culture solidifié avec de l'agar permet le développement des minitubercules, après 5 semaines de culture *in vitro*. En

Tableau 2. Influence du milieu de culture sur la tubérisation des miniboutures de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. cv. Bintje).

Type de milieu nutritif	Tubérisation (%)
Agar	96
Liquide statique	0
Liquide agité	98

revanche, il n'y a pas de formation de minitubercules sur les explants cultivés en milieu liquide statique, malgré un apport optimal d'éléments nutritifs nécessaires dans le milieu de culture. Ce fait coïncide souvent avec l'absence de développement des axillaires sur les miniboutures en cours de culture. Cette observation suggère l'état d'anoxie du milieu liquide statique, qui provoque l'asphyxie de nos explants, alors que la croissance des axillaires capables de tubériser est favorisée lorsque les explants sont cultivés sur un milieu liquide agité, assurant effectivement une meilleure aération indispensable au développement des minitubercules. Des résultats similaires sont également obtenus par TOVAR *et al.* (1985). En ce qui concerne le comportement des minitubercules développés au cours de la culture, on note une tendance à la formation des lenticelles proéminentes (cals?) pour les minitubercules évoluant à l'intérieur du milieu nutritif (fig. 2). Ce défaut au niveau des lenticelles, provoqué par une sursatura-

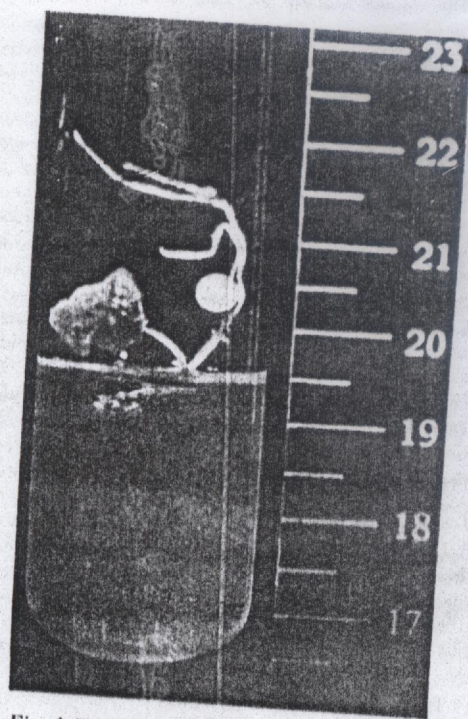


Fig. 1. Tubérisation *in vitro* de la variété de pomme de terre Bintje.

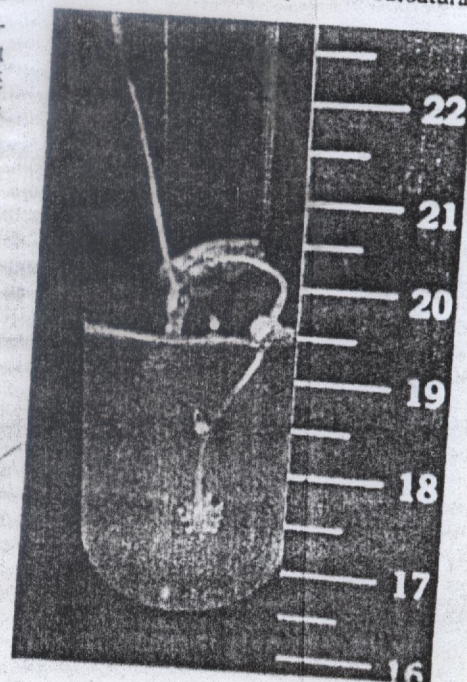


Fig. 2. Minitubercule de pomme de terre (cv. Bintje) montrant la formation des lenticelles proéminentes.

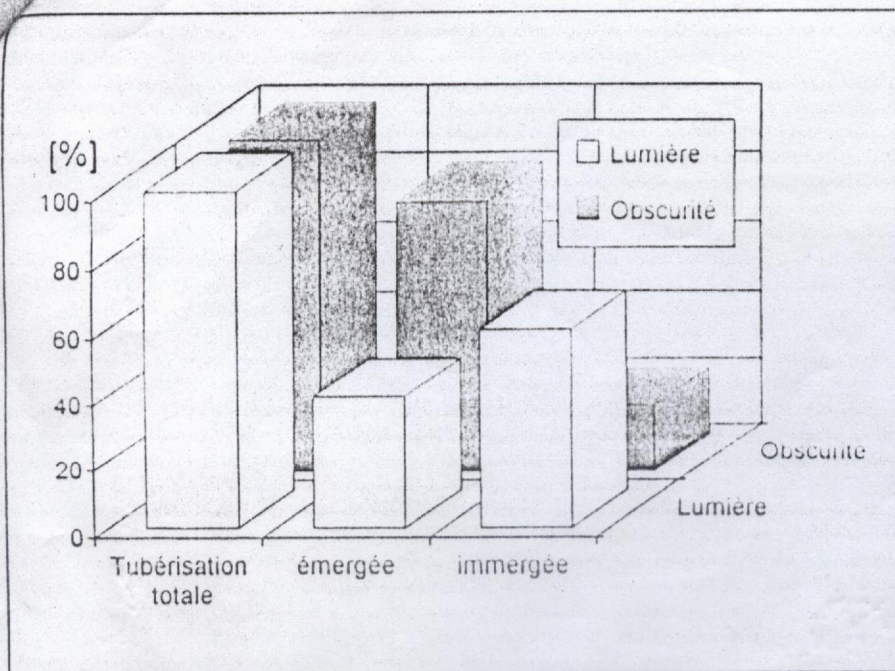


Fig. 3. Influence de la lumière sur la tubérisation *in vitro* des miniboutures de pomme de terre (cv. Bintje).

tion d'eau dans l'environnement de culture (SLIMMON *et al.*, 1989), représente, par conséquent, une perte non négligeable des microtubercules après la récolte.

### Influence de la photopériode

L'apport d'une période de lumière au cours de la culture n'améliore pas la capacité de tubériser chez les miniboutures de pomme de terre Bintje cultivées *in vitro*. En effet, aucune différence significative n'apparaît si l'on compare les taux de tubérisation obtenus entre les explants maintenus à l'obscurité et ceux qui sont cultivés avec un régime d'éclaircissement de 8 h/jour (fig. 3). Néanmoins, on note que la croissance des explants dure longtemps et que les microtubercules éclairés verdissent rapidement en comparaison avec ceux qui sont maintenus à l'obscurité totale. Par ailleurs, l'endroit où se développent les microtubercules est également influencé, dans nos conditions de culture, par la lumière. En

effet, on observe plus de 60% de tubercules formés dans le milieu nutritif (tubérisation immergée) lorsqu'on applique aux cultures une période d'éclaircissement; alors que la plupart des explants (80%) maintenus à l'obscurité totale tubérisent à l'extérieur du milieu de culture (tubérisation émergée) (fig. 3). SLIMMON *et al.* (1989) ont aussi rapporté des réactions comparables sur les quatre géotypes Red Pontiac, Shepody, Kennebec et Yukon Gold en présence d'une photopériode.

### Conclusion

Au terme des essais, nous constatons que la tubérisation *in vitro* des miniboutures de pomme de terre (cv. Bintje) est favorisée par un apport important en énergie (8% de saccharose) et une teneur suffisante en benzyladénine (BA). En revanche, aucune différence significative n'a été démontrée lorsque les explants sont maintenus sur un sup-

port de culture solidifié par de l'Agar ou en milieu liquide agité. Une photopériode de 8 heures ne permet pas d'augmenter le taux de tubérisation, mais accroît la tubérisation immergée défavorable.

### Remerciements

Nous remercions M. D. THOMAS pour son aide technique à la réalisation de cette étude.

### Bibliographie

- CHANDRA R., DODDS J. H. and TOVAR P., 1988. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). Newsletter, International Association for Plant Tissue Culture 55, 10-20.
- COLLET G. F., 1985. Enracinement amélioré lors de la production *in vitro* de rosiers. *Revue suisse Vitic., Arboric., Hortic.* 17 (4), 259-263.
- HUSSEY G. and STACEY N. J., 1984. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Ann. Bot.* 53, 565-578.
- LE C. L., 1990. Facteurs influençant la tubérisation *in vitro* des microboutures de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. var. Agria). *Revue suisse Agric.* 22 (2), 115-116.
- LE C. L., 1991. Aspects pratiques de la micropropagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Revue suisse Agric.* 23 (6), 357-358.
- LE C. L. et COLLET G. F., 1985. Assainissement de la variété de pomme de terre Sangema. Méthode combinant la thérapie *in vitro* et la culture de méristèmes. Premiers résultats. *Revue suisse Agric.* 17 (4), 221-225.
- LE C. L. et COLLET G. F., 1988. Conservation *in vitro* de l'assortiment suisse des variétés de pomme de terre. *Revue suisse Agric.* 20 (5), 277-281.
- LENTINI Z. and EARLE E. D., 1991. *In vitro* tuberization of potato clones from different maturity groups. *Plant Cell Reports* 9, 691-695.
- LO F. M., IRVINE B. R. and BARKER W. G., 1972. *In vitro* tuberization of the common potato (*Solanum tuberosum*) is not a response to the osmotic concentration of the medium. *Canadian Journal of Botany* 50, 603-605.
- PALMER C. E. and SMITH O. E., 1969. Cytokinins and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L. *Nature* 221, 279-280.
- SLIMMON T., SOLZA MACHADO V. and COFFIN R., 1989. The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars. *Am. Potato J.* 66, 843-848.
- TOVAR P., ESTRADA R., SCHILDE-RENTSCHLER L. and DODDS J. H., 1985. Induction and use of *in vitro* potato tubers. *CIP Circular* 13 (4), 1-5.
- WANG P. J. and HU C. Y., 1982. *In vitro* mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. *Am. Potato J.* 59, 33-37.

### Summary

*In vitro* Tuberization of commonly grown potato (*Solanum tuberosum* L. var. Bintje)

Single-node explants (minicuttings) of potato cultivar Bintje cultured on CMS basal medium (COLLET, 1985), supplemented with 8% saccharose and various levels of benzyladenine (BA), were tested for their capacity of tuberization *in vitro*. The influence of the types of culture medium as well as the photoperiod on the tuberization were also considered.

### Zusammenfassung

*In vitro*-Knollenbildung von Kartoffel (*Solanum tuberosum* L. var. Bintje)

Achselknospen (Ministecklingen) der Kartoffelsorte Bintje wurden auf ein CMS basal-Nährmedium (COLLET, 1985), welches 8% Saccharose und verschiedenen Konzentrationen der BA enthält, kultiviert, um die *in vitro*-Knollenbildungskapazität zu bewirken. Die Wirkung von verschiedenen Kulturunterlagen und Photoperioden auf die Knollenbildungskapazität wurden auch untersucht.