

N° d'ordre : 1005

50376  
1983  
55

50376  
1983  
55

# THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE 3<sup>ème</sup> CYCLE**

par

Nur Mohammad TALUKDER

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DU ROLE DE QUELQUES  
GLYCOALCALOIDES SUR LA CROISSANCE DES SYSTEMES  
RACINAIRE ET STOLONIFERE ET SUR LA TUBERISATION  
DE GERMES DE POMME DE TERRE (*Solanum tuberosum L.*)  
CULTIVES *in vitro***



Soutenue en février 1983 devant la Commission d'Examen :

Membres du Jury :	M. R.J. GAUTHERET	Président
	M. R. TIZIO	Rapporteur
	M. R. BOURIQUET	Examineur
	Mle. C. PAUPARDIN	Examineur

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Physiologie végétale, Université des Sciences et Techniques de Lille, sous la direction de Mademoiselle le Professeur C. PAUPARDIN. Elle nous a constamment encouragé, guidé et conseillé avec bienveillance pour la réalisation de ce travail. Nous lui exprimons notre profond respect et notre plus vive reconnaissance.

Nous voulons exprimer notre gratitude à Monsieur le Professeur R.J. GAUTHERET qui assure la Présidence du Jury de notre Thèse.

Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur R. TIZIO de bien vouloir accepter la charge de Rapporteur. Nous lui en sommes vivement reconnaissant.

Nous remercions très vivement Monsieur le Professeur R. BOURIQUET de l'honneur qu'il nous fait de juger ce travail.

Nous voudrions assurer de notre sympathie Messieurs J. DUBOIS, J. VASSEUR, S. RAMBOUR, J.P. COUILLEROT, H. MORVAN, Mademoiselle C. BRASSART et Madame E. TAHON qui nous ont aidé et encouragé pour la réalisation de ce travail.

Nous remercions aussi le personnel du Laboratoire pour la sympathie et l'amitié qu'il nous a manifestés au cours de ce travail.

Nous voulons remercier Monsieur M. QUEMENER, Chef de la Station de la Fédération Nationale des Producteurs de Plante de Pomme de Terre, qui nous a fourni aimablement les tubercules dont nous avons besoin.

Nous remercions Messieurs I.F. DUMITRESCU, J.W. HENNART et M. BATCHO pour leur aide personnelle.

Enfin, nous remercions aussi Madame S.C. MOREL, du Centre International des Etudiants et Stagiaires, pour la grande compréhension qu'elle a manifestée à notre égard tout au long de ce travail.

## RESUME

La solanine, glycoalcaloïde, retarde la tubérisation de fragments de germes de la Pomme de Terre var. Bintje cultivés in vitro et de boutures cultivées en serre ; ce retard est en rapport avec la dose employée. Elle inhibe également le développement des racines et des stolons, modifie la morphologie des stolons et des tubercules formés et stimule le développement des feuilles. La solanine antagonise l'action de l'acide naphtyl acétique et de la kinétine, facteurs qui, à certaines doses, favorisent la précocité de la tubérisation. Ces deux substances de croissance inversent l'effet de la solanine sur la modification des tubercules formés in vitro. La solanine augmente l'effet retardant de l'acide gibbéréllique sur la tubérisation et sur le développement des feuilles et antagonise son action sur les racines. Une température élevée renforce l'effet retardant de la solanine, tandis qu'une photopériode longue associée à la présence de solanine accélère la précocité de la tubérisation.

La chaconine, autre glycoalcaloïde de la Pomme de Terre, exerce une action semblable à celle de la solanine sur les phénomènes observés.

Par des dosages on a démontré que la kinétine favorise l'accumulation de solanine dans les tubercules alors que l'acide gibbéréllique réduit celle-ci. En outre, les résultats obtenus permettent de penser que les synthèses de solanine et de chlorophylles seraient interdépendantes.

En conclusion, on montre que les glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre participent à des mécanismes de régulation de la croissance et de la morphogénèse de la plante et ne sont donc pas des produits figés.

Mots clés : Solanum tuberosum L., Germe, Tubérisation  
Glycoalcaloïde, Solanine/Solanum  
tuberosum L., Chaconine/Solanum tubero-  
sum L.

## G L O S S A I R E

A N A :	Acide naphtyl acétique
AG <sub>3</sub> :	Acide gibbérellique
C C C :	Chlorure de (2 - chloroéthyl) triméthyl ammonium
Ch :	Chaconine
cm :	Centimètre
2,4-D :	Acide 2,4-dichlorophénoxy acétique
H M G :	Acide β-hydroxy-β-méthyl glutarique
Kin. :	Kinétine
M V A :	Acide mévalonique
M :	Molarité
mg :	Milligramme
nm :	Nanomètre
S :	Solanine
T :	Tomatine

## TABLE DES MATIERES

CHAPITRE I. INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE II. HISTORIQUE .....	5
A. I. DISTRIBUTION DES GLYCOALCALOIDES DANS LA PLANTE	5
A. II. FACTEURS RESPONSABLES DE LA FORMATION DES GLYCOALCALOIDES .....	6
A. III. RELATIONS ENTRE GLYCOALCALOIDES ET CHLOROPHYLLES	7
A. IV. BIOSYNTHESE DES GLYCOALCALOIDES ..	8
A. V. ACTIVITES ENZYMATIQUES	9
 B. CULTURE DE FRAGMENTS DE GERMES DE POMME DE TERRE	 9
 CHAPITRE III. MATERIEL ET METHODES	 14
1. MATERIEL .....	14
2. METHODES .....	14
2.a. Culture de fragments de germes de Pomme de Terre	14
2.b. Réalisation de boutures de Pomme de Terre	15
2.c. Culture de fragments de tiges de Pomme de Terre	16
2.d. Extraction de la solanine ...	16
2.e. Extraction de pigments chlorophylliens et caroténoïdes .....	18
2.f. Expression des résultats .	18
 CHAPITRE IV. RESULTATS EXPERIMENTAUX	 21
A. I. ACTION DE LA SOLANINE	21
1.a. Action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	21
1.b. Action de la solanine sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère de segments de tiges de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	26
1.c. Action de la solanine sur des boutures de Pomme de Terre	28
2. Action de la solanine et de l'ANA sur la tubérisa- tion et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	31

3.	Action de la solanine et de la kinétine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	35
4.	Action de la solanine et de l'acide gibbéréllique sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	38
5.	Action de la solanine et du CCC sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	42
6.	Action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u> à différentes températures	45
7.	Action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u> à différentes durées d'éclairement	49
B.	ACTION DE LA CHACONINE	53
B.1.	Action de la chaconine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	53
B.2.	Action de la chaconine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de segments de tiges de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	55
C.	ACTION DE LA TOMATINE	59
C.1.	Action de la tomatine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	59
D.	ESTIMATION QUANTITATIVE DE LA SOLANINE	61
D.1.	Extraction de la solanine dans les germes	61
D.2.	Extraction de la solanine dans des feuilles prélevées sur des plantes cultivées dans les conditions naturelles en champ d'expérimentation	61

D.3. Extraction de la solanine dans les tubercules	62
D.3.1. Tubercules mères et tubercules cultivés en champ d'expérimentation	62
D.3.2. Tubercules formés <u>in vitro</u>	63
E. DOSAGE DES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS ET CAROTENOIDES	65
E.1. Dosage des pigments chlorophylliens et caroténoïdes dans les tiges stolonifères apparues sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés <u>in vitro</u>	65
CHAPITRE V. CONSIDERATIONS GENERALES	66
I. Glycoalcaloïdes et croissance du système racinaire	66
II. Glycoalcaloïdes et croissance du système caulinaire	67
III. Glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre et induction du phénomène de tubérisation ....	68
IV. Rapport entre solanine et synthèse de chlorophylles et de caroténoïdes ....	72
V. Migration et accumulation des glycoalcaloïdes	73
CHAPITRE VI . CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	75
CHAPITRE VII . BIBLIOGRAPHIE	77

## INTRODUCTION

La Pomme de Terre (Solanum tuberosum L., Solanacée) plante de grand intérêt économique a été très étudiée depuis longtemps pour l'amélioration; elle a fait l'objet également de nombreuses recherches fondamentales. Cette plante renferme des saponines, produits du métabolisme dit secondaire. Ces saponines sont des glucosides dont l'aglycone est une sapogénine ou génine constituée d'un noyau stéroïde renfermant un atome d'azote. Certains auteurs désignent les substances de ce type par le terme glycoalcaloïdes.

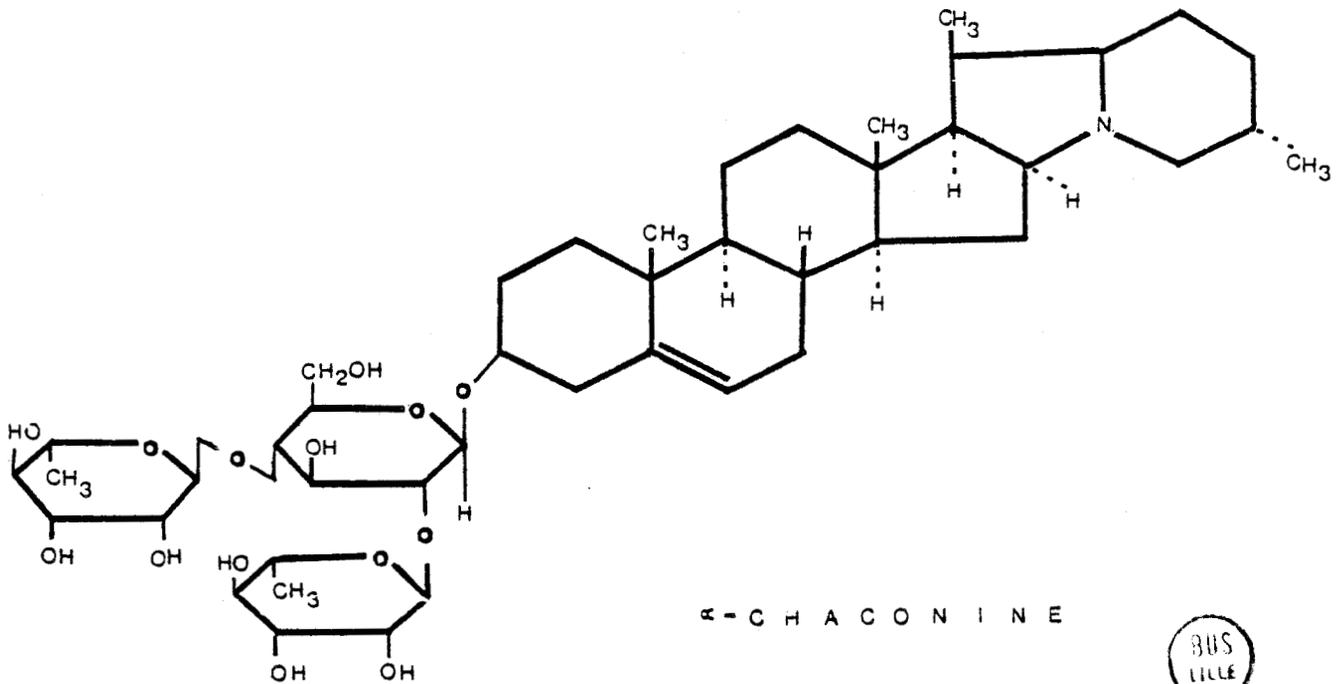
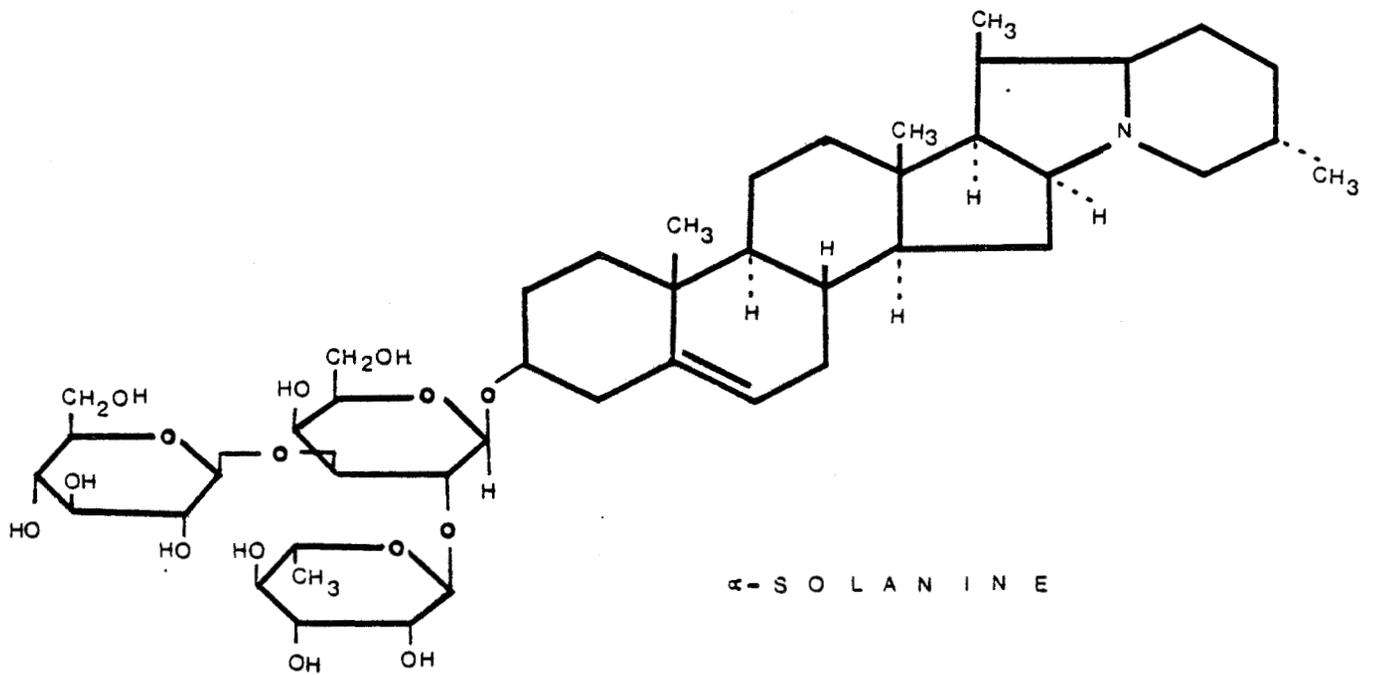
La présence constante de ces substances dans la plante avec des variations de teneur suivant les organes et le stade de leur développement suggérerait leur intervention possible dans la croissance ou la morphogénèse. Or, à l'heure actuelle, il n'existe presque aucun travail démontrant leur rôle éventuel.

+

+ +

Jusqu'en 1954, la solanine était considérée comme l'unique glycoalcaloïde de la Pomme de Terre ; puis KUHN et LOW ont isolé la chaconine dans la plante de Pomme de Terre. Ces deux glycoalcaloïdes ont le même aglycone, la solanidine; ils diffèrent par une molécule de sucre : la solanine possède une chaîne de galactose-glucose-rhamnose et la chaconine une chaîne de glucose-rhamnose-rhamnose liées à l'aglycone. Ces deux glycoalcaloïdes sont présents principalement sous la forme alpha (fig. 1) qui représente environ 95 % des glycoalcaloïdes totaux présents dans la Pomme de Terre ; on peut aussi les trouver sous les formes bêta et gamma possédant une chaîne courte, mais en quantités négligeables.

Tous les organes de la plante : feuilles, bourgeons, tiges, fleurs, fruits, tubercules, etc. contiennent des glycoalcaloïdes. Ceux-ci sont particulièrement concentrés dans les feuilles et les extrémités de tiges; les fleurs et les fruits sont aussi riches en solanine.



BUS  
LILLE

Fig. 1. Structures chimiques de l' $\alpha$ -solanine et de l' $\alpha$ -chaconine

Quant à leur rôle pour la plante qui les produit, il reste encore à démontrer. Quelques travaux permettent de penser que certains alcaloïdes pourraient peut-être jouer un rôle de réserve énergétique et azotée. Ils pourraient peut-être aussi intervenir comme régulateurs de croissance en raison de l'analogie structurale de certains d'entr'eux avec certaines hormones végétales. Ainsi, on a montré que la nicotine, alcaloïde du tabac, aurait un effet antiauxinique et bloquerait la synthèse chlorophyllienne. On attribue aussi souvent aux alcaloïdes un rôle protecteur vis à vis des attaques parasitaires de la plante. Toutefois, ces résultats sont très fragmentaires et difficilement interprétables.

+  
+ +

La Pomme de Terre présente la particularité de donner naissance à des tubercules. La tubérisation est un phénomène par lequel certains organes : racines, tiges, feuilles, hypocotyles, etc., à la suite d'une hypertrophie radiale, donnent naissance à des organes charnus qui accumulent des substances de réserve. Chez la Pomme de Terre, le tubercule est produit à l'extrémité d'une tige souterraine appelée stolon, il assure la propagation végétative de l'espèce. On connaît l'importance des facteurs lumière et température dans le déterminisme de la tubérisation. On sait que la Pomme de Terre tubérise préférentiellement en jours courts et en présence de nuits fraîches. Le mécanisme de la tubérisation de la Pomme de Terre a été étudié sur la plante entière, sur des boutures cultivées en serre ou sur des fragments d'organes cultivés in vitro. Plusieurs facteurs semblent contrôler le phénomène. Ainsi, parmi les auxines, l'acide naphthyl acétique (ANA) employé à dose élevée, favorise la tubérisation à la suite de l'inhibition du système racinaire ; si on utilise des doses convenables, l'auxine favorise la rhizogenèse et par la suite le "facteur racinaire" retarde la tubérisation. Les cytokinines, notamment la kinétine, se comportent à peu près comme l'ANA. La gibbérelline ( $AG_3$ ) retarde la tubérisation et ce retard est toujours en rapport avec la concentration employée. La lumière lève l'effet retardateur exercé par la gibbérelline quand la dose de celle-ci est assez faible. Si on utilise des doses plus fortes, l'antagonisme devient moins net et ainsi de suite à mesure que la concentration augmente. Certains composés

phénoliques interviennent dans le contrôle du phénomène de tubérisation ou entrent en interaction avec la gibbérelline.

+  
+ +

Nous avons donc pensé qu'il serait intéressant de rechercher si les glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre, notamment la solanine, pourraient avoir un rôle dans la croissance ou le développement des organes de la plante et plus particulièrement dans le phénomène de tubérisation qui semble résulter de l'interaction d'un très grand nombre de facteurs dont certains sont encore inconnus. La méthode des cultures in vitro nous est apparue la plus précise pour appréhender cette question.

## HISTORIQUE

La culture des germes isolés de tubercules ou celle de noeuds de tiges dans un milieu approprié permet l'obtention de la tubérisation de ces explantats. De nombreux travaux ont été réalisés sur le rôle de diverses substances de croissance sur le phénomène de tubérisation. Par contre il existe, à notre connaissance, très peu d'études sur le rôle physiologique de la solanine, ou plus généralement des glycoalcaloïdes, sur la tubérisation, ou les phénomènes d'organogenèse de la Pomme de Terre.

La première partie de ce chapitre est consacrée aux travaux portant sur la distribution des glycoalcaloïdes dans la plante, les facteurs responsables de leur formation, leur relation avec la chlorophylle et leur biosynthèse; la deuxième partie se rapporte aux études concernant la croissance et la morphogenèse de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro et aux expériences réalisées sur des boutures ou sur la plante entière cultivée en serre ou en conditions naturelles.

### A-I- DISTRIBUTION DES GLYCOALCALOÏDES DANS LA PLANTE

Un certain nombre d'études (BOMER et MATTIS, 1924 ; PFANKUCH, 1937 ; LAMPITT et al, 1943 ; WOLF et DUGGAR, 1946 ; BAKER et al, 1955 ; PAQUIN et LEPAGE, 1963 ; FITZPATRICK et OSMAN, 1974 ; BUSHWAY et al, 1980) relatives à la solanine-glycoalcaloïde ont été consacrées à la recherche d'une bonne méthode d'extraction et de dosage de ce glycoalcaloïde dans les diverses parties de la plante de Pomme de Terre. Les deux principaux glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre ont été isolés en 1826 par BAUP pour la solanine et en 1954 par KUHN et LÖW pour la chaconine.

Selon BOMER et MATTIS (1924), la teneur moyenne en solanine-glycoalcaloïde des tubercules de Pomme de Terre est de 2 à 10 mg pour 100 g de matière fraîche. WOLF et DUGGAR (1946) ont, pour leur part, mis en évidence 2 à 13 mg de solanine pour 100 g de matière fraîche, valeurs établies sur un échantillon de tubercules de 32 variétés américaines de Pomme de Terre prélevés à différents stades de maturation.

Ce glycoalcaloïde est responsable de l'odeur caractéristique et de l'amertume du tubercule (BOMER et MATTIS, 1924 ; ZITNAK, 1961 ; ZITNAK et JOHNSTON, 1970). Une teneur en solanine supérieure à 20 mg pour 100 g de matière fraîche peut être néfaste pour le consommateur ; à ce sujet, BOMER et MATTIS (1924) font remarquer que l'épluchage élimine une bonne partie de la solanine contenue dans le tubercule, car elle n'est pas détruite par la cuisson (SALUNKHE et al, 1972).

La solanine est localisée dans tous les organes de la plante, la teneur la plus élevée s'observe dans le bourgeon apical, les bourgeons axillaires ou les jeunes feuilles (WOLF et DUGGAR, 1946) ainsi que dans les fleurs (LAMPITT et al 1943). Dans les tubercules, la concentration habituelle en solanine est élevée dans le péricarde et dans le parenchyme cortical (WOLF et DUGGAR, 1946).

PROKOSHEV et al (1952), par une expérience de greffe, ont démontré que la solanine ne se synthétise que dans les feuilles, jamais dans les racines.

SINDEN et al (1972) ont constaté que la teneur en solanine est plus élevée dans les feuilles de jeunes plantes que dans celles des plantes sénescences. Etudiant une espèce voisine, Solanum laciniatum Ait., LANCASTER et al (1977) ont également observé une quantité très élevée de glycoalcaloïde dans de jeunes feuilles.

#### A-II- FACTEURS RESPONSABLES DE LA FORMATION DES GLYCOALCALOÏDES

Divers facteurs comme le caractère variétal, l'intensité de la lumière, la variation de la température, la nature du sol et la fertilisation, les conditions climatiques, la taille et la maturité du tubercule, etc., peuvent jouer un rôle sur l'élaboration des glycoalcaloïdes par les tissus de la plante.

Toutes les variétés renferment des glycoalcaloïdes, mais le caractère génétique des différentes variétés est un facteur qui influence fortement la quantité de glycoalcaloïdes élaborés (ZITNAK et JOHNSTON, 1970 ; SINDEN et WEBB, 1972, 1974 ; SANFORD et SINDEN, 1972).

SINDEN et WEBB (1972) ont obtenu à peu près les mêmes quantités de glycoalcaloïdes dans des expériences réalisées pendant 2 ans sur 6 variétés de Pomme de Terre cultivées dans 39 localités différentes aux Etats-Unis et concluent que la teneur en glycoalcaloïdes dépend d'un facteur génétique. SANFORD et SINDEN (1972) ont suivi pendant deux ans les descendants de ces variétés. La teneur en glycoalcaloïdes est constante pour chaque variété et ils pensent que la transmission de ces caractères est de nature polygénique.

La teneur en solanine augmente dans des tubercules exposés à la lumière (BOMER et MATTIS, 1924 ; CONNER, 1937 ; LAMPITT et al, 1943 ; GULL et ISENBERG, 1960 ; PATIL et al, 1971).

SALUNKHE et al, (1972) ont constaté que le taux de synthèse de la solanine peut être multiplié par 3 ou 4 à la lumière par rapport à l'obscurité. Cependant, la lumière n'est pas indispensable à cette synthèse, et elle peut se réaliser même à basse température, et à l'obscurité.

La taille du tubercule a également un effet important sur la teneur en glycoalcaloïdes; ceux-ci sont concentrés dans les parties superficielles, la proportion de tissus péridermiques par rapport au poids total du tubercule est plus élevée dans des petits tubercules (WOLF et DUGGAR, 1946). Habituellement, les tubercules petits et immatures contiennent, en effet, des glycoalcaloïdes en grande quantité (WOLF et DUGGAR, 1946 ; SINDEN et WEBB, 1972 ; PACHETT, 1976 ; VERBIST et MONNET, 1979).

#### A-III- RELATIONS ENTRE GLYCOALCALOÏDES ET CHLOROPHYLLES

Lorsque des tubercules sont exposés à la lumière, un verdissement se développe dans le périderme. Ce verdissement est dû à la formation de chlorophylles et est accompagné d'une synthèse de glycoalcaloïdes. Une relation entre ces deux composés a été suggérée, mais elle reste encore controversée. En effet, LAMPITT et al, (1943) ont constaté une relation directe entre le développement de chlorophylles et de solanine, tandis que GULL et ISENBERG, (1960); et PATIL et al, (1971), suggèrent que ces phénomènes sont indépendants. En 1976, RAMASWAMY et al ont obtenu une corrélation significative entre la synthèse de la chlorophylle et celle de la solanine.

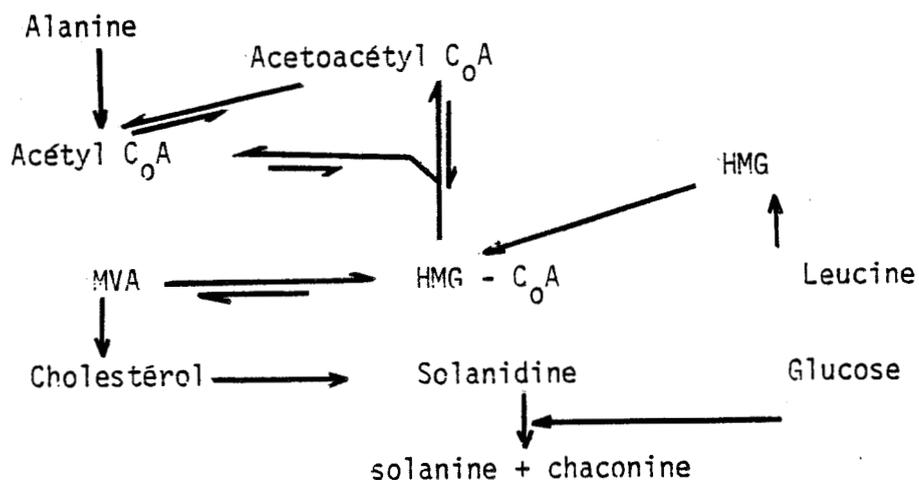
Ils ont démontré que le  $^{14}\text{C}$  du  $^{14}\text{CO}_2$  est incorporé dans l'aglycone solanidine. Ces chercheurs ont observé que les chloroplastes isolés du péricarde de tubercule vert sont d'une part, en mesure de fixer le  $\text{CO}_2$ , et d'autre part, capables d'incorporer  $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ ,  $^{14}\text{C}$  formate, 2- $^{14}\text{C}$  glycine, 2- $^{14}\text{C}$  pyruvate, 2- $^{14}\text{C}$  acétate, 2- $^{14}\text{C}$  mévalonate et U- $^{14}\text{C}$  sérine dans la solanidine, aglycone de l'alcaloïde. Le site de biosynthèse de la solanidine serait donc le chloroplaste.

#### A-IV- BIOSYNTHESE DES GLYCOALCALOÏDES

Des travaux ont été réalisés sur la biosynthèse des alcaloïdes stéroïdiques du genre Solanum (HEFTMANN et MOSETTING, 1960 ; HEFTMANN, 1963 ; SCHREIBER, 1968). GUSEVA et PASESHNICHENKO (1958) ont observé que l'acétate radioactif est absorbé et utilisé par les germes de Pomme de Terre, et la radioactivité est plus élevée pendant les deux premiers jours.

Plus tard, on a démontré que dans la biosynthèse des alcaloïdes de germes de Pomme de Terre, le mévalonate est un meilleur précurseur que l'acétate (GUSEVA et al, 1961).

JADHAV et al (1973) ont incorporé de l'acide  $\beta$  - hydroxy- $\beta$ -méthyl glutarique (HMG), marqué au  $^{14}\text{C}$ , de la L-leucine, de la L-alanine et du D-glucose dans des glycoalcaloïdes de germes de Pomme de Terre; la radioactivité a été plus élevée dans la partie glycosidique que dans l'aglycone. Le schéma de biosynthèse des glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre proposé par JADHAV et al. (1973) est le suivant :



## A-V- ACTIVITES ENZYMATIQUES

Très peu d'études ont été réalisées sur les systèmes enzymatiques impliqués dans le processus de biosynthèse de l'aglycone et de glycosylation des alcaloïdes. LILJEGREN (1971) et LAVINTMAN et al. (1977) ont suggéré que la glycosylation est une étape finale de la biosynthèse des glycoalcaloïdes qui s'effectue en présence de l'UDP glycosyltransférase.

Considérant la formation des glycosides de solanine et de chaconine des tubercules et des germes de Pomme de Terre, JADHAV et SALUNKHE (1973) émettent l'hypothèse de l'intervention d'une glycosyltransférase dans le mécanisme.

## B- CULTURE DE FRAGMENTS DE GERMES DE POMME DE TERRE

Plusieurs travaux (BARKER, 1953 ; MES et MENGE 1954 ; CHAPMAN, 1954, 1955, 1958 ; LINGAPPA, 1957 ; OKAZAWA, 1959) réalisés sur des boutures ou des plantes entières ont montré le rôle de diverses substances de croissance sur le phénomène de tubérisation.

MES et MENGE(1954),CHAPMAN (1954, 1955) et OKAZAWA (1959) ont pensé que le sucre stimule la croissance des tubercules. Selon certains auteurs (GREGORY, 1956 ; CHAPMAN, 1958), il existe un facteur spécifique de la tubérisation élaboré par le système foliaire dans certaines conditions de photopériode et de température, et ce facteur est transmissible par greffage. MADEC (1963) suggère que ce stimulus est de nature hormonale et peut se synthétiser, dans certaines conditions climatiques, au niveau des feuilles et des tubercules.

A la suite de nombreuses expériences réalisées sur des fragments de germes cultivés in vitro , TIZIO (1964 a, b) pense que les racines synthétisent une substance qui retarde le processus de la tubérisation. Le retard observé semble être en rapport direct avec la quantité présente de cette substance car le retard varie comme l'importance du système racinaire; l'auxine intervient dans le développement de celui-ci, et n'agit donc qu'indirectement sur la tubérisation (TIZIO, 1964. a). Cet auteur, utilisant diverses substances susceptibles d'influencer la rhizogenèse comme la kinétine (kin), l'acide 2,3,5-triiodobenzoïque,

l'acide naphtyl-acétique (ANA) et l'acide indolylacétique (AIA), a conclu que ces substances agissent indirectement sur la tubérisation (TIZIO, 1964 b). Les gibbérellines participent au contrôle de la tubérisation en provoquant un retard qui est en rapport avec leur concentration dans les feuilles de la plante pour une plante entière, ou dans le milieu nutritif pour un fragment cultivé in vitro. (TIZIO, 1964 c). D'après cet auteur (TIZIO, 1964 d) le fait que la Pomme de Terre soit capable de synthétiser plusieurs gibbérellines, suggère une intervention de ces substances dans le mécanisme de la tubérisation et dans la croissance des tiges et des stolons ; en effet, l'AG<sub>3</sub> et d'autres gibbérellines exercent la même action in vitro et sur des boutures feuillées.

De l'ensemble de ces travaux, on constate que la tubérisation ne semble pas provoquée par un seul facteur spécifique mais par l'interaction de plusieurs facteurs (TIZIO, 1964 e). En 1966 (a), cet auteur observe que l'extrait de feuilles de plantes saines de Pomme de Terre en état de tubérisation ajouté au milieu de culture ne renferme pas les facteurs de tubérisation mis en évidence par MADEC (1963). La synthèse du facteur racinaire qui détermine des retards plus ou moins importants du phénomène de tubérisation ne dépend pas seulement du nombre de racines formées mais aussi de leur croissance. Ainsi l'ANA ajouté au milieu de culture, à forte concentration ( $5,4 \cdot 10^{-6} M$ ) en inhibant l'allongement du système racinaire, augmente la précocité de la tubérisation (TIZIO, 1966 b). Dans une autre expérience, TIZIO (1966, c) a démontré que ce facteur racinaire qui retarde la tubérisation n'est pas identique à l'acide gibbérellique, car il inhibe la néoformation et la croissance des stolons stimulées par ailleurs par la gibbérelline. A cette époque, le même auteur (TIZIO 1966 d) a signalé la présence de cytokinines endogènes dans le périoderme du tubercule.

OKAZAWA (1967) a mis en évidence une corrélation directe entre les doses d'ANA et de 2-4-D et la précocité de la tubérisation sans tenir compte de l'action qu'elles pourraient exercer sur la croissance du système racinaire. RACCA et TIZIO (1968) ont constaté qu'avant la tubérisation, les parties feuillées de la Pomme de Terre contiennent des concentrations relativement élevées de substances agissant comme les gibbérellines ; elles diminuent après l'installation du phénomène de tubérisation. Ils ont observé que les racines contiennent aussi plusieurs facteurs d'action gibbérellinique qui disparaissent lorsque la tubérisation a lieu. Ils ont pensé que ces substances pourraient jouer un rôle dans la régulation de la tubérisation.

Un retardant, le chlorure de (2-chloroéthyl) - triméthyl ammonium (C C C ), augmente la précocité de la tubérisation par inhibition de la synthèse de gibbérelline mais l'acide gibbérellique peut annuler l'effet même du C C C et ainsi retarder la tubérisation (TIZIO, 1969 ; HAMMES, 1971).

OKAZAWA (1969, 1970) a confirmé la présence de cytokinines naturelles chez la Pomme de Terre. A la même époque, on a constaté que les cytokinines, plus particulièrement la kinétine, induisent la tubérisation de stolons et accroissent la précocité de développement du tubercule de Pomme de Terre (PALMER et SMITH, 1969 ; et SMITH et PALMER, 1970).

En analysant des plantes entières, PAUPARDIN et TIZIO (1969. a) ont constaté que la concentration en composés phénoliques tels que l'acide caféique ou la quercétine augmentent au cours du cycle de la tubérisation. En ajoutant ces substances dans le milieu de culture, ils montrent qu'elles pourraient jouer un rôle dans la régulation du phénomène de tubérisation en liaison avec d'autres facteurs de croissance, et en particulier avec les gibbérellines endogènes (PAUPARDIN et TIZIO, 1969 b , PAUPARDIN, 1972). En 1970, ils ont observé des interactions entre l'effet de divers acides phénoliques et celui de l'acide gibbérellique, soit sur les germes cultivés in vitro, soit sur des boutures, et ont constaté que divers acides phénols avancent la tubérisation. Ils pensent que cette interaction dépend uniquement de la concentration en acide gibbérellique, c'est-à-dire que, lorsque la concentration de l'acide gibbérellique augmente, les composés phénoliques renforcent leur action retardatrice et vice-versa.

GARCIA TORRES et GOMEZ-CAMPO (1971, 1972) ont constaté que l'acide 2 - chloro-éthyl phosphonique (ethrel ou C E P ) augmente la précocité de la tubérisation et le nombre de tubercules fournis ; les stolons sont courts et le développement des racines est réduit lorsqu'on utilise conjointement l'éthrel et l'acide gibbérellique dans le milieu.

En 1973, TIZIO et BIAIN ont démontré que la tubérisation, stimulée par

des doses d'ANA ou d'autres substances de croissance, est liée à l'inhibition totale ou partielle du développement des stolons et des racines et est accompagnée d'une augmentation significative de l'activité des cytokinines endogènes. Ces auteurs pensent que les cytokinines ne participent pas réellement au processus de tubérisation.

En utilisant diverses solutions minérales de WHITE, d'HELLER, de NITSCH et NITSCH, de GAUTHERET, de MURASHIGE et SKOOG et de TRIPATHI, on a constaté que les sels minéraux retardent la tubérisation, mais leur carence inhibe la néoformation et la croissance des racines et des stolons (TRIPATHI, 1973 a). Ce même auteur (TRIPATHI, 1973 b) a étudié le comportement des principaux éléments minéraux sur la rhizogenèse et la tubérisation des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro et observé que l'addition d'ions nitriques retardait le processus de tubérisation. L'effet retardant des sels minéraux sur la tubérisation a été confirmé par BLANC (1973) et PARROT (1973), mais ce retard peut être compensé par l'ANA (PARROT, 1973). MANANT (1975), utilisant des solutions de glucose irradié à sec par les rayons gamma, a trouvé une corrélation inverse entre le développement des racines et la tubérisation et le retard de tubérisation observé est d'autant plus important que le sucre a été exposé à de plus fortes doses de rayons ; un effet stimulant a été obtenu de la même façon sur l'allongement des racines.

FORSLINE et LANGILLE (1976) ainsi que MINGO-CASTEL et al (1976) ont constaté séparément que la kinétine augmente le pourcentage de tubérisation de fragments de tiges de Pomme de Terre et diminue l'allongement des stolons.

KRAUSS et MARSCHNER (1976), dans une expérience réalisée par la méthode de culture hydroponique, ont observé que l'application d'azote sous forme nitrate ou ammonium inhibe la tubérisation. Cette inhibition peut être compensée par l'application du C C C

En pulvérisant les parties feuillées de plantes de Pomme de Terre cultivées en champs avec une solution de C C C, REUST (1976) a constaté une inhibition de la croissance des tiges et une diminution du rendement lors d'une récolte précoce.

DIMALLA et al (1977) ont confirmé que les gibbérellines retardent la tubérisation, la quantité de gibbérellines endogènes diminuant pendant la tubérisation.

En 1978, SATTELMACHER et MARSCHNER, émettent la même idée que TIZIO et BIAIN (1973), à savoir que les cytokinines ne sont pas directement responsables de la tubérisation bien qu'elles jouent un rôle sur ce phénomène. Ces mêmes chercheurs en 1979, lors d'une expérience de culture hydroponique, ont observé que l'application continue d'azote sur les racines de plante de Pomme de Terre inhibe la tubérisation, mais si l'application de l'azote est interrompue la tubérisation est induite ; l'application de l'azote sur les feuilles n'a, par contre, aucune action sur la tubérisation.

Prélevant des germes du même tubercule-mère pendant plusieurs égermations, TIZIO (1979a) a constaté que la tubérisation est d'autant plus précoce que le nombre de égermations augmente. Il pense que la tubérisation de germes de Pomme de Terre dépend de l'état physiologique et de l'âge des tubercules-mères. Cette hypothèse a été confirmée par TIZIO et TIZIO (1981).

De BOTTINI et al (1981) ont constaté que le C C C stimule la synthèse d'une nouvelle gibbérelline au niveau du feuillage. Après isolement de cette substance ils ont démontré qu'elle retarde la tubérisation.

## MATERIEL ET METHODES

### 1 - MATERIEL

Le présent travail a été réalisé avec des tubercules de Pomme de Terre de la variété Bintje traités à la rindite\*, aimablement fournis par la Station de la Fédération nationale des Producteurs de Pommes de Terre, la Grille de Mantes, Chambourcy, France.

### 2 - METHODES

#### 2-a- Culture de fragments de germes de Pomme de Terre

Des tubercules de Pomme de Terre sont placés à l'obscurité à la température ambiante du laboratoire (20-21°C) de telle façon que leur région apicale soit dirigée vers le haut. Au bout de 15-20 jours, on élimine les premiers germes développés, afin d'obtenir une deuxième germination, puis on remet les tubercules à l'obscurité comme précédemment. Après 25 à 30 jours, les tubercules qui présentent alors de nombreux germes longs de 12 à 15 cm, sont exposés à la lumière naturelle pendant 10 à 15 jours, afin de stimuler la lignification des tissus et rendre les germes ainsi moins fragiles lors de la stérilisation ultérieure à l'hypochlorite de calcium (technique décrite par TIZIO, 1964a).

Les germes sont prélevés au stade de 2 ou 3 noeuds au-dessous du bourgeon terminal. Ils sont stérilisés par une solution obtenue après filtration de l'hypochlorite de calcium employé à la concentration de  $70\text{g.l}^{-1}$  s'il s'agit d'hypochlorite titrant à 120° chlorométriques ou  $40\text{g.l}^{-1}$  pour l'hypochlorite de calcium titrant à 200° chlorométriques, pendant 20 minutes. Les germes sont ensuite rincés trois fois à l'eau distillée stérile, puis les fragments munis d'un noeud sont ensemencés stérilement. Les explantats sont placés sur un milieu renfermant la solution minérale de WHITE (1943) dont la composition est :  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ,  $200\text{mg.l}^{-1}$  ;  $\text{KNO}_3$ ,  $80\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $16,5\text{mg.l}^{-1}$  ;  $\text{MgSO}_4$ ,  $360\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{KCl}$   $65\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $200\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{MnSO}_4$ ,  $4.5\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{ZnSO}_4$ ,  $1.5\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ;  $1.5\text{ mg.l}^{-1}$  ;  $\text{KI}$ ,  $0.75\text{ mg.l}^{-1}$ . A ce milieu de base (TIZIO 1964a)

---

\*Composition de la rindite : monochlorhydrate du glycol, 7 :  
dichlorure d'éthylène, 2 : tétrachlorure de carbone, 1.

La rindite est utilisée pour lever la dormance des tubercules.

on ajoute le mélange vitaminique de MOREL (1948), de la gélose ( $10 \text{ g.l}^{-1}$ ) du glucose ( $30 \text{ g.l}^{-1}$ ), du pantothénate de calcium ( $0,25 \text{ mg.l}^{-1}$ ) et du citrate ferrique ( $10 \text{ mg.l}^{-1}$ ) ainsi que différentes concentrations en régulateurs de croissance (ANA, kinétine,  $\text{AG}_3$ , CCC). La solanine (PM : 868), la chaconine (PM : 852), et la tomatine (PM : 1034, 21) ont été ajoutées au milieu seules ou associées aux diverses substances de croissance. La stabilité à l'autoclave des glycoalcaloïdes utilisés a été vérifiée. Le milieu de culture et les instruments ont été stérilisés selon les techniques de GAUTHERET (1959). Les ensemencements sont pratiqués sous une hotte à flux laminaire en présence d'air pulsé filtré.

Les cultures sont normalement exposées à la lumière naturelle continue pendant 7 jours, puis placées à l'obscurité à la température de  $20-21^\circ \text{C}$ , conditions les plus favorables pour la tubérisation (CHAPMAN, 1955).

Des essais ont été réalisés selon diverses photopériodes : 0, 6, 12, et 24 heures d'éclairement et selon diverses températures  $10^\circ$ ,  $15^\circ$ ,  $20^\circ$ ,  $25^\circ$  et  $30^\circ \text{C}$ .

Pour les essais portant sur l'influence des différentes photopériodes, l'éclairement était fourni par des tubes fluorescents de type Blanc DE LUX (Général Electric, 40 W) dont l'intensité d'éclairement était comprise entre 1200 et 1500 lux au niveau des tubes de culture, la température a été maintenue à  $20-21^\circ \text{C}$ . Les expériences relatives à l'action de la température ont été réalisées à l'obscurité.

## 2-b- Réalisation de boutures de Pomme de Terre

Selon la méthode de GREGORY (1956), des boutures feuillées de 12 à 15 cm, ou de 5 à 5,5 cm de longueur contenant trois feuilles bien développées, sont prélevées sur des plantes non tubérisées, âgées de 40 à 45 jours et cultivées en serre dans de la vermiculite, en jours longs et à une température de  $24^\circ - 25^\circ \text{C}$ .

Les boutures sont trempées soit par leur base, soit entièrement pendant 8 heures dans une solution aqueuse de solanine à différentes concentrations.

Elles sont ensuite transférées dans des pots en plastique contenant de la vermiculite. Les boutures sont arrosées deux fois par semaine, avec la solution minérale de WHITE diluée de moitié, et placées dans une chambre de culture à la lumière diffuse naturelle et à 20-21°C. Dix boutures sont réalisées pour chacune des conditions expérimentées. On observe l'action de la solanine sur le développement des feuilles et des stolons et sur la tubérisation.

#### 2-c- Culture de fragments de tiges de Pomme de Terre

Des essais ont été réalisés sur des fragments de tiges prélevés sur des Pommes de Terre cultivées en serre. Après décapitation de l'extrémité de tiges de plantes âgées de 40 à 45 jours et élimination des feuilles, des segments de tiges comportant 2 noeuds et mesurant 3 cm environ ont été prélevés. Après désinfection par une solution de chlorure mercurique ( $3 \text{ g.l}^{-1}$ ) additionnée de quelques gouttes de tween 80 et lavage 3 fois à l'eau distillée stérile, ils sont placés sur un milieu de culture. La composition du milieu et les conditions de culture sont les mêmes que celles décrites en 2-a. Chaque expérience a été répétée au moins 2 fois. Les explantats infectés ont été éliminés. Les résultats sont exprimés sur les explants sains.

#### 2-d - Extraction de la solanine

Le protocole d'extraction de la solanine est schématisé à la figure 2.

Quatre différents types d'échantillons sont utilisés pour l'extraction de la solanine :

- des feuilles prélevées à différents stades du développement sur des Pommes de Terre cultivées en champ ;
- des germes développés à l'obscurité;

- des tubercules récoltés au champ après 105 jours de plantation, donc prélevés sur des plantes cultivées en conditions naturelles ;
- des tubercules formés in vitro en absence ou en présence de solanine seule ou combinée avec des facteurs de croissance.

Les extractions pratiquées sur des feuilles ou sur des tubercules ou sur des germes ont été réalisées après broyage du matériel frais au mortier, sous azote liquide et dans un mélange de méthanol additionné de 2 % d'acide acétique.

L'extraction de la solanine est effectuée selon la méthode de BAKER et al (1955) modifiée par PAQUIN et LEPAGE (1963).

Le broyat de 500 mg à 10 g de matériel frais est déposé dans une cartouche placée dans un appareil Soxhlet. Le mortier est rincé 3 fois avec un mélange de méthanol et d'acide acétique (2 %). Le volume total est d'environ 250 ml ; l'extraction au reflux dure pendant 16 heures à 67° C.

L'extrait est ensuite concentré à 1-2 ml environ dans un évaporateur rotatif sous vide à une température inférieure à 30° C. Après addition de 5 ml d'une solution d'acide sulfurique à 1 %, le résidu est filtré et le filtre lavé avec 5 ml de la même solution d'acide sulfurique.

Le filtrat est alcalinisé avec de l'ammoniaque à 28 %. Les alcaloïdes précipitent à pH d'environ 10.0. La suspension est ensuite chauffée à 80° C pendant 30 minutes. Après refroidissement à 5° C pendant une nuit, le précipité est récupéré par centrifugation et lavé plusieurs fois avec une solution ammoniacale à 1 %. Le précipité est ensuite solubilisé dans 10 ml d'acide sulfurique à 1 %.

On prélève 2,5 ml de cette solution dans un tube à essai plongé dans de la glace, on ajoute ensuite goutte à goutte pendant 3 minutes 5 ml d'acide sulfurique concentré, à l'aide d'une burette. Après une minute, on ajoute 2,5 ml de formaldéhyde à 1 % de la même façon que précédemment pendant 2 minutes. La réaction est complète en 90 minutes et le soluté prend alors une coloration violette. Ensuite, la quantité de solanine est estimée par une mesure de Densité Optique au spectrophotomètre à 570 nm. Une gamme témoin a été réalisée avec l' $\alpha$ -solanine pure fournie par Sigma Chemical Company (USA).

#### 2-e- Extraction de pigments chlorophylliens et caroténoïdes

Pour le dosage des pigments chlorophylliens, nous avons employé la méthode décrite par HOLM (1954) dont les étapes principales sont les suivantes :

Après mesure du poids de matière fraîche des tiges stolonifères pourvues ou non de petites feuilles chlorophylliennes, celles-ci sont broyées dans un mortier en présence de 2 ml d'acétone redistillée et refroidie, une pincée de sable de quartz est alors ajoutée. L'extrait est ensuite filtré rapidement. Le mortier et le papier filtre sont rincés 3 fois avec quelques gouttes d'acétone. Le volume extrait a été amené à 5 ml. Toutes ces opérations sont réalisées dans une chambre froide. Les concentrations des pigments chlorophylliens et des pigments caroténoïdes sont estimés au spectrophotomètre par une mesure de Densité Optique à 662 nm, 644 nm et 440,5 nm.

#### 2-f Expression des résultats

Nous avons utilisé 12 ou 24 explantats par condition pour les cultures des fragments de germes et de tiges et 10 boutures par condition pour les essais de bouturage.

Selon les expériences, les résultats sont exprimés en :

- nombre de racines par explantat.

- poids de matière fraîche des racines en mg par explantat
- longueur des stolons en cm ;
- poids de matière sèche des stolons en mg par explantat ;

- la tubérisation est exprimée par le dénombrement des explantats qui ont tubérisé au bout d'un temps variable suivant les conditions expérimentales. Elle est donnée en pourcentage du nombre d'échantillons. On détermine également le temps nécessaire pour obtenir 50 % de germes tubérisés afin d'apprécier la vitesse du phénomène observé et le nombre moyen de tubercules par explantat.

L'évolution de la tubérisation a été notée tous les 3 ou 4 jours.

- Teneur en solanine

La teneur en solanine est exprimée en mg pour 100 g de matière fraîche.

- Teneur en chlorophylles et caroténoïdes

Pour calculer les concentrations de chlorophylle A (Ca), de chlorophylle B (Cb) et caroténoïdes totaux (Cc) en  $\text{mg.l}^{-1}$  de solution (HOLM, 1954), nous avons employé les équations suivantes :

$$\text{Ca} = 9,78 \text{ E } 662,0 - 0,99 \text{ E } 644,0$$

$$\text{Cb} = 21,4 \text{ E } 644,0 - 4,65 \text{ E } 662,0$$

$$\text{Cc} = 4,69 \text{ E } 440,0 - \text{C}(a+b) 0,2676$$

E = Extinction

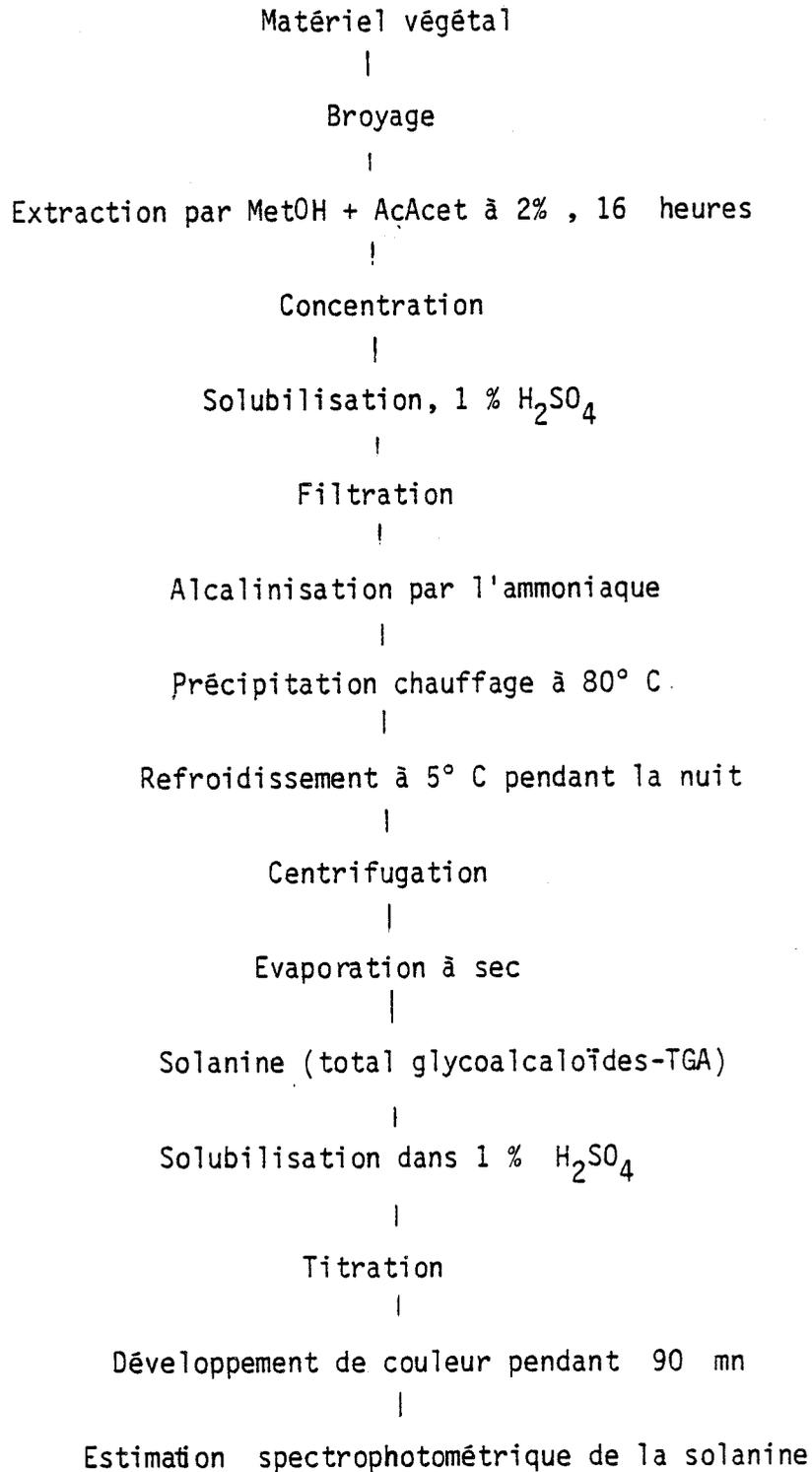


Fig. 2 : Protocole d'extraction et de dosage de la solanine

## RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous considérerons dans une première partie l'action de la solanine sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes et de tiges de pomme de Terre cultivés in vitro, et sur des boutures de plantes cultivées en serre. Nous décrirons l'action de la solanine employée seule, ou associée avec des substances de croissance telles que l'ANA, la Kinétine, l'AG<sub>3</sub> et le CCC, à différentes températures et à différentes durées d'éclairement. Dans une deuxième partie nous étudierons l'action d'autres glycoalcaloïdes : la chaconine et la tomatine. Dans une dernière partie, nous donnerons les estimations quantitatives de solanine dans des feuilles de la plante de Pomme de Terre et dans des tubercules cultivés au champ, et néoformés en culture in vitro. Nous avons également estimé les quantités de chlorophylles et caroténoïdes dans les tiges stolonifères développées sur des fragments de germes cultivés in vitro.

### A. 1. ACTION DE LA SOLANINE

1.a. Action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

Les résultats présentés dans les tableaux 1 et 2, ont été obtenus à partir de fragments de germes de Pomme de Terre (2ème germination) de la variété Bintje cultivés in vitro sur un milieu de base (III.2.a). La solanine a été ajoutée au milieu aux doses de 0;  $10^{-7}$ M;  $5.10^{-7}$ M,  $10^{-6}$ M;  $2.10^{-6}$ M;  $3.10^{-6}$ M;  $5.10^{-6}$ M;  $8.10^{-6}$ M;  $10^{-5}$ M et  $5.10^{-5}$ M. L'expérience a été répétée 3 fois avec 12 explantats par condition. Les cultures sont placées à 20°-21°C pendant 7 jours, en lumière naturelle du laboratoire, et ensuite transférées à l'obscurité.

Conditions	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50 % des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 72 jours de culture	Nombre moyen de tubercules par explantat.
Témoin	32	100	1,7
S. $10^{-7}$ M	33	88	1,8
S. $5 \cdot 10^{-7}$ M	36	83	2,2
S. $10^{-6}$ M	36	83	2,1
S. $2 \cdot 10^{-6}$ M	39	83	1,4
S. $3 \cdot 10^{-6}$ M	40	75	1,2
S. $5 \cdot 10^{-6}$ M	42	75	1,3
S. $8 \cdot 10^{-6}$ M	44	50	1,3
S. $10^{-5}$ M	tubérisation inférieure à 50 %	33	1,5
S. $5 \cdot 10^{-5}$ M	50 %	0	0

TABLEAU I. Action de la solanine sur la tubérisation de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 72 jours de culture, à l'obscurité à 20-21°C. S, Solanine ; M, Molarité.

D'après les résultats du Tableau I, nous constatons que la solanine retarde la tubérisation par rapport au témoin de manière proportionnelle à la dose employée. Elle ne manifeste cependant aucun phénomène de toxicité. Si elle est employée à la dose de  $10^{-7}$  M à  $10^{-6}$  M, elle augmente le nombre de tubercules formés. Elle exerce un effet inhibiteur sur le développement des racines et sur l'allongement des stolons formés (Tableau 2). Nous observons également en présence de solanine, des modifications morphologiques des stolons et des tubercules formés. Les stolons sont plus épais et pourvus de petites feuilles (Planche I, fig. 1 à 4).

Les tubercules formés sont sphériques pour le témoin et pour les concentrations faibles de solanine ( $10^{-7}$  M à  $2 \cdot 10^{-6}$  M); ils sont plus allongés pour les doses élevées (Planche I, fig. 5). Nous avons remarqué que sur ces tubercules allongés, des nouvelles tiges se forment.

Conditions	Nombre moyen de racines par explantat	Poids moyen de racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par explantat	Longueur moyenne des stolons (cm)
Témoin	6,1	42,8	1,2	8,8
S. $10^{-7}$ M	5,7	28,1	1,7	6,4
S. $5 \cdot 10^{-6}$ M	3,6	11,8	2,0	6,4
S. $10^{-6}$ M	3,8	15,3	1,5	7,5
S. $2 \cdot 10^{-6}$ M	2,2	5,9	1,6	5,4
S. $3 \cdot 10^{-6}$ M	2,1	6,5	1,5	7,1
S. $5 \cdot 10^{-6}$ M	2,1	7,6	1,3	6,2
S. $8 \cdot 10^{-6}$ M	2,0	3,8	2,0	2,4
S. $10^{-5}$ M	1,8	3,2	2,0	2,4
S. $5 \cdot 10^{-5}$ M	0	0	0	0

TABLEAU 2. Action de la solanine sur les systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 72 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C. S, Solanine; M, Molarité.

## PLANCHE I

Action de la solanine sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro.

Fig. 1 à 3. Extrémités des tiges stolonifères formées sur des fragments de germes cultivés in vitro

Fig. 1. Témoin (sans solanine) : on observe des feuilles rudimentaires.

Fig. 2. En présence de solanine  $10^{-6}M$  ) Les tiges formées  
 ) sont pourvues de  
 ) petites feuilles  
 Fig. 3. En présence de solanine  $5.10^{-6}M$  ) bien développées

Fig. 4. Tige formée en présence de solanine  $10^{-6}M$  :  
 on observe le développement de feuilles.

Fig. 5. Tubercules formés en présence de différentes concentrations de solanine.

( S, Solanine ; M, Molarité)

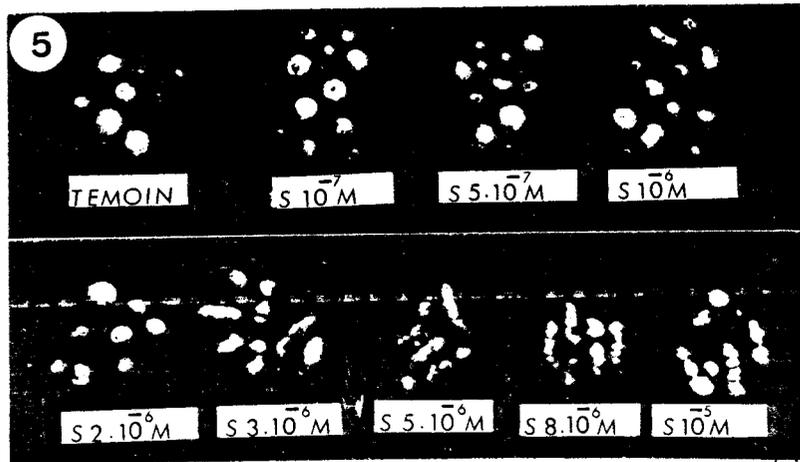


PLANCHE N°I

1.b. Action de la solanine sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère de segments de tiges de plantes de Pomme de Terre cultivés in vitro.

Afin d'apprécier l'action de la solanine sur le développement des feuilles et des stolons, nous avons pensé réaliser des expériences avec des fragments de tiges prélevés sur la plante de Pomme de Terre et cultivés in vitro. Des tiges sont prélevées sur des plantes induites cultivées en serre en photopériode courte (9 à 10 H par jour), âgées de 40 à 45 jours, non tubérisées. En éliminant les feuilles et l'apex, 12 explantats de 3 cm de longueur environ pourvus de 2 noeuds ont été cultivés pour chaque condition sur le milieu de base (§ III 2.a.) renfermant la solanine aux doses de  $0,10^{-6}$ ,  $5.10^{-6}$ ,  $10^{-5}$  M. Les cultures ont été placées à 20-21°C en lumière naturelle pendant 7 jours et ensuite transférées à l'obscurité à même température.

On constate (Tableau 3) que la solanine, dans ce cas, stimule la tubérisation à la concentration de  $10^{-6}$  M et  $5.10^{-6}$  M et elle l'inhibe seulement à forte concentration ( $10^{-5}$  M). Elle inhibe également le développement du système racinaire et stolonifère (Tableau 4). Nous avons observé encore une fois que des feuilles petites et simples sont apparues sur les tiges en présence de ce glycoalcaloïde employé à forte concentration ( $5.10^{-6}$  M et  $10^{-5}$  M) (Pl. II ; Fig. 1, 2).

Conditions	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50 % des explantats	Pourcentage d'explantats tubérisés après 80 jours de culture
Témoin	51	100
S. $10^{-6}$ M	21	75
S. $5 \cdot 10^{-6}$ M	21	83
S. $10^{-5}$ M	78	50

TABLEAU 3. Action de la solanine sur la tubérisation des segments de tiges de plantes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C.

Conditions	Nombre moyen de racines par explantat	Poids moyen de racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par explantat	Longueur moyenne des stolons (cm)
Témoin	1,9	5,6	1,0	5,7
S. $10^{-6}$ M	1,2	12,2	1,2	4,3
S. $5 \cdot 10^{-6}$ M	0,1	0,3	1,5	4,4
S. $10^{-5}$ M	0,1	0,3	1,7	2,5

TABLEAU 4. Action de la solanine sur les systèmes racinaire et stolonifère de segments de tiges de plantes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 80 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.

S, Solanine ; M, Molarité.



### 1.c. Action de la solanine sur des boutures de Pomme de Terre

Le développement de petites feuilles, les modifications morphologiques des stolons et des tubercules formés sur des fragments de germes et de tiges de la plante de Pomme de Terre cultivés in vitro en présence de solanine, nous ont suggéré de réaliser des expériences complémentaires en utilisant la méthode des boutures décrite par GREGORY (1956). Nous avons utilisé des lots de 10 boutures de Pomme de Terre de 12 à 15 cm de longueur, présentant 3 ou 4 feuilles bien développées; prélevées sur des plantes induites cultivées en serre, dans de la vermiculite, à une photopériode longue (14 à 15 H par jour), âgées de 40-45 jours et non tubérisées. Les boutures sont trempées pendant 8 H par leur base dans des solutions aqueuses de solanine à 0,  $10^{-7}$ M,  $5.10^{-7}$ M,  $10^{-6}$ M,  $5.10^{-6}$ M et  $10^{-5}$ M. Une autre série d'expériences analogues a été réalisée avec des boutures de 5 à 5,5 cm de longueur portant 3 feuilles, trempées entièrement pendant 8 H dans la solanine à 0,  $10^{-5}$ M,  $2.10^{-5}$ M et  $5.10^{-6}$ M. Ces boutures sont ensuite cultivées dans des pots en plastique, contenant de la vermiculite et placées dans une chambre de culture à la lumière naturelle à 20-21°C. Dans tous les cas traités à la solanine, nous avons observé que les feuilles sont plus larges et plus développées. Ce grandissement des feuilles est d'autant plus important que les doses employées sont plus fortes (Pl. II, Fig. 3). Les boutures ont tubérisé à peu près en même temps mais les tubercules formés sont allongés ou ramifiés (Pl. II, Fig. 4) aux fortes doses de solanine :  $5.10^{-6}$ M. On confirme que la solanine agit sur le développement des feuilles et sur la morphologie du tubercule.

La consistance de la vermiculite permet d'examiner périodiquement le système racinaire, de suivre l'apparition des tubercules et de remettre les boutures en place, mais, comme il était impossible de prélever les racines entières sans les casser et de les séparer de la vermiculite pour calculer leur poids, nous n'avons pas réalisé de mesures sur le système racinaire.

## PLANCHE II

Action de la solanine sur des fragments de tiges de plantes de Pomme de Terre cultivés in vitro et des boutures feuillées cultivées en serre.

Fig. 1. Fragments de tiges de la plante de Pomme de Terre : à droite, le témoin et à gauche en présence de solanine à la dose de  $5.10^{-6}M$ .

Fig. 2. Fragments de tiges de la plante de Pomme de Terre ; à gauche, le témoin et à droite, en présence de solanine à la dose de  $10^{-5}M$ .

On observe (Fig. 1,2) l'apparition de feuilles et le raccourcissement de stolons en présence de solanine.

Fig. 3. Boutures de Pomme de Terre cultivées en serre dans des pots contenant de la vermiculite ; les boutures sont trempées dans une solution renfermant différentes concentrations de solanine.

On observe que plus la dose de solanine est élevée, plus le développement des feuilles est important.

Fig. 4. Les tubercules formés en présence de solanine à la dose de  $5.10^{-6}M$  sont allongés ou ramifiés, tandis que ceux formés sans solanine (témoin) sont sphériques. (T, Témoin; S, Solanine; les doses de solanine sont exprimées en Molarité.)

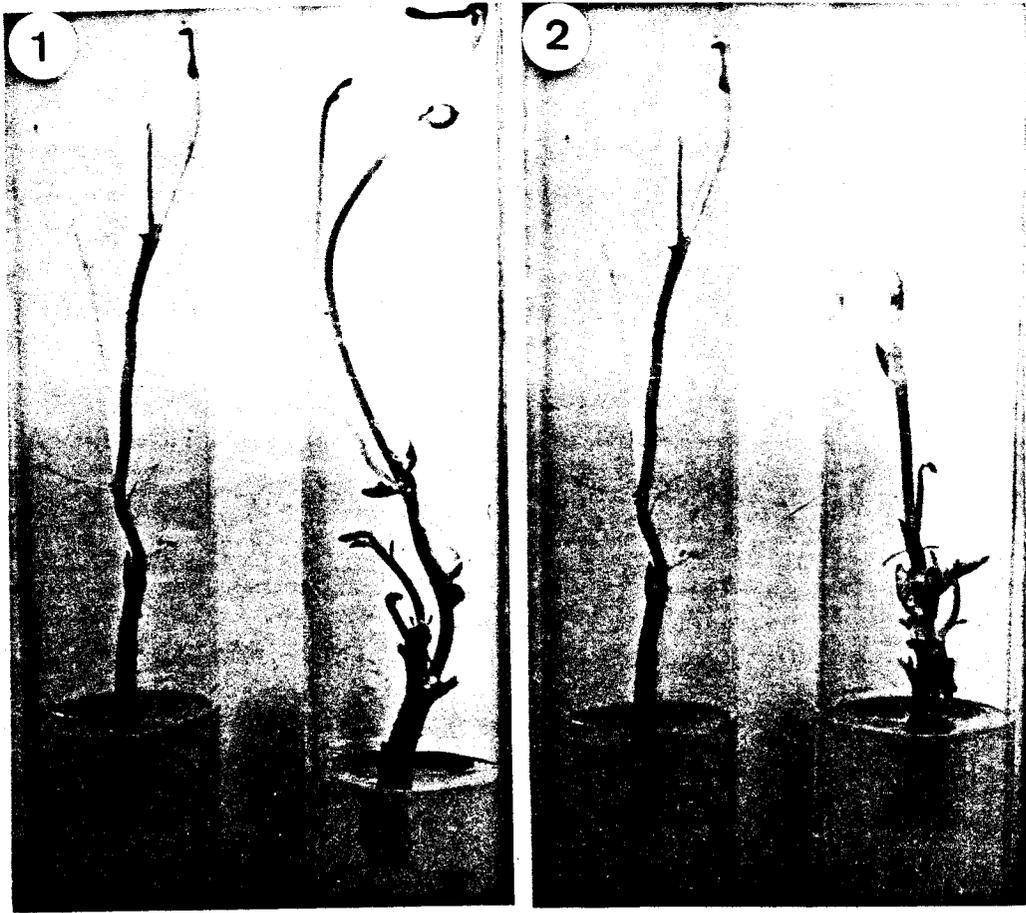


PLANCHE N° II

2. Action de la solanine et de l'ANA sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

On sait que l'acide naphthyl-acétique (ANA) ajouté au milieu de culture à la dose de  $5,4 \cdot 10^{-6} \text{M}$  accélère la tubérisation des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro en inhibant le développement du système racinaire (TIZIO, 1964a). Pour étudier l'éventuelle interaction de l'ANA avec la solanine, nous avons réalisé des expériences utilisant l'ANA aux doses de  $0,5 \cdot 10^{-7} \text{M}$ ,  $10^{-6} \text{M}$  et  $5 \cdot 10^{-6} \text{M}$  employé seul ou associé à la solanine aux doses de  $0,10^{-7} \text{M}$ ,  $5 \cdot 10^{-7} \text{M}$  et  $10^{-6} \text{M}$ , ajoutées au milieu de base (§ III, 2.a.). Les cultures sont placées à  $20-21^\circ\text{C}$  pendant 7 jours en lumière naturelle et ensuite transférées à l'obscurité.

L'examen des Tableaux 5 et 6 permet d'établir une relation directe entre les doses d'ANA employées et la précocité de la tubérisation ; plus la dose d'ANA est importante, plus les tubercules apparaissent tôt et plus le système racinaire est inhibé. Ces résultats confirment ceux obtenus par TIZIO (1964a,b). La précocité de la tubérisation est la plus forte en présence d'ANA  $5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ . A la dose de  $5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ , on observe 50 % de fragments de germes tubérisés en 19 jours, c'est-à-dire 31 jours avant le témoin. On remarque qu'aux faibles doses ( $5 \cdot 10^{-7} \text{M}$  et  $10^{-6} \text{M}$ ) la tubérisation a été également plus précoce, mais le nombre et le poids moyen des racines sont augmentés par rapport au témoin (Tableaux 5 et 6). Les tubercules apparaissent sur les tiges stolonifères ou sur les germes en présence de l'ANA. Par contre, la solanine employée seule empêche ou retarde la tubérisation et inhibe partiellement le développement des systèmes racinaire et stolonifère, les tubercules sont formés sur les tiges stolonifères.

Les résultats montrent qu'en présence d'ANA, la solanine employée à faible concentration ( $10^{-7}M$ ) n'a aucun effet sur la tubérisation mais à dose plus élevée ( $10^{-6}M$ ), elle antagonise l'action de l'ANA. Il faut remarquer que la solanine dans ce cas, à faible concentration ( $10^{-7}M$ ), avance la tubérisation par rapport au témoin. L'inhibition des systèmes racinaire et stolonifère exercée par l'ANA est renforcée lorsque la solanine est ajoutée au milieu et cette inhibition est d'autant plus importante que la dose employée est plus forte.

Nous avons, par ailleurs, observé qu'en présence de solanine employée seule à forte dose, les tiges stolonifères développées sur les germes, sont pourvues de petites feuilles chlorophylliennes, quoique les cultures soient réalisées à l'obscurité, et les tubercules formés sont plus ou moins allongés. Mais si les germes sont cultivés dans un milieu contenant de l'ANA et de la solanine même pour de faibles concentrations d'ANA, les tiges stolonifères ne sont pas pourvues de petites feuilles chlorophylliennes et les tubercules formés sont sphériques et normaux.

Ces résultats suggèrent que l'ANA antagonise l'action de la solanine.

Dose de solanine	Dose d'ANA	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50% des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 80 jours de culture	Nombre de tubercules par explantat
0	0	50	100	1,3
	$5 \cdot 10^{-7} M$	38	100	1,6
	$10^{-6} M$	33	100	1,2
	$5 \cdot 10^{-6} M$	19	100	1,1
$10^{-7} M$	0	38	100	1,9
	$5 \cdot 10^{-7} M$	38	100	1,3
	$10^{-6} M$	37	83	1,2
	$5 \cdot 10^{-6} M$	19	100	1,6
$5 \cdot 10^{-7} M$	0	tubérisation inférieure à 50 %	42	2,0
	$5 \cdot 10^{-7} M$	34	75	1,2
	$10^{-6} M$	22	83	1,2
	$5 \cdot 10^{-6} M$	26	75	1,0
$10^{-6} M$	0	62	58	1,1
	$5 \cdot 10^{-7} M$	36	83	1,5
	$10^{-6} M$	31	83	1,0
	$5 \cdot 10^{-6} M$	33	83	1,1

TABLEAU 5. Action de la solanine et de l'ANA employés seuls ou associés sur la tubérisation des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C.



Dose de solanine	Dose d'ANA	Nombre moyen de racines par explantat	Poids moyen de racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par explantat	Longueur moyenne des stolons (cm)
0	0	6,7	34,2	1,2	9,1
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	8,0	92,6	1,3	9,2
	$10^{-6}$ M	9,4	104,1	1,1	6,9
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	ébauches racinaires		1,0	3,7
$10^{-7}$ M	0	5,7	30,4	1,3	7,9
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	7,8	64,8	1,1	7,9
	$10^{-6}$ M	6,3	61,9	1,2	7,3
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	ébauches racinaires		1,2	6,1
$5 \cdot 10^{-7}$ M	0	2,4	10,5	1,3	5,7
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	2,0	25,3	1,1	8,1
	$10^{-6}$ M	2,6	26,0	1,0	6,5
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	ébauches racinaires		1,0	6,1
$10^{-6}$ M	0	1,3	2,3	1,1	4,4
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	1,4	10,2	1,2	4,6
	$10^{-6}$ M	1,9	14,7	1,2	4,0
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	ébauches racinaires		1,0	4,3

TABLEAU 6. Action de la solanine et de l'ANA employés seuls ou associés sur les systèmes racinaire et stolonifère des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 80 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.

### 3. Action de la solanine et de la kinétine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro.

Pour étudier l'interaction de la solanine et de la kinétine sur le phénomène de tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère, des expériences ont été réalisées sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro sur le milieu de base (§ III 2.a.) auquel nous avons ajouté de la kinétine aux doses de  $0,5 \cdot 10^{-7} M$ ,  $10^{-6} M$  et  $5 \cdot 10^{-6} M$  et de la solanine aux doses de  $0,10^{-7} M$ ,  $5 \cdot 10^{-7} M$ , et  $10^{-6} M$ . Les cultures sont placées à  $20-21^{\circ}C$  pendant 7 jours en lumière naturelle et ensuite mises à l'obscurité.

On constate que la kinétine seule provoque une tubérisation plus précoce (Tableau 7) et à forte concentration, elle exerce une action inhibitrice sur le système racinaire et stolonifère (Tableau 8). Ces résultats corroborent ceux obtenus par d'autres auteurs (PALMER et SMITH 1969, SMITH et PALMER 1970, TIZIO et BIAIN 1973). On observe une fois encore que la solanine ralentit la tubérisation et la croissance des systèmes racinaire et stolonifère (Tableaux 7 et 8). Ces effets sont, bien sûr, en rapport avec la dose employée.

En association avec la kinétine, la solanine, même à faible concentration, exerce une action retardatrice sur la tubérisation et sur les autres phénomènes étudiés. Plus la concentration en solanine est augmentée, plus la tubérisation est retardée ou inhibée. En général, on peut constater que la kinétine antagonise légèrement l'action de la solanine sur la tubérisation dans toutes les conditions. Cet antagonisme est d'autant plus important que la dose de la kinétine employée est plus forte. Plus la dose de kinétine est élevée, plus le pourcentage de tubérisation augmente.

La kinétine seule avance la tubérisation même à faibles concentrations et exerce très peu d'action sur les systèmes racinaire et stolonifère, sauf à dose forte ( $5.10^{-6}M$ ), alors que l'effet inhibiteur de la solanine sur la tubérisation et sur le système racinaire est évident même à faible concentration.

Dose de solanine	Dose de kinétine	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50% des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 106 jours de culture
0	0	28	92
	$5.10^{-7}M$	19	92
	$10^{-6}M$	18	100
	$5.10^{-6}M$	20	100
$10^{-7}M$	0	32	92
	$5.10^{-7}M$	24	83
	$10^{-6}M$	22	100
	$5.10^{-6}M$	28	100
$5.10^{-7}M$	0	48	83
	$5.10^{-7}M$	56	50
	$10^{-6}M$	47	83
	$5.10^{-6}M$	42	92
$10^{-6}M$	0	] tubérisation inférieure à 50 %	42
	$5.10^{-7}M$		42
	$10^{-6}M$		54
	$5.10^{-6}M$		42

TABLEAU 7. Action de la solanine et de la kinétine employées seules ou associées sur la tubérisation de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C  
M, Molarité

Dose de solanine	Dose de kinétine	Nombre de racines par explantat	Poids moyen de racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons	Longueur moyenne des stolons (cm)
0	0	5,5	15,0	1,4	5,7
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	5,3	15,6	1,2	5,8
	$10^{-6}$ M	4,0	15,1	1,2	5,8
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	1,7	3,6	1,0	3,7
$10^{-7}$ M	0	2,7	12,4	1,2	7,7
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	2,4	17,6	1,2	7,2
	$10^{-6}$ M	3,5	15,9	1,2	6,8
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	1,6	4,3	1,3	5,5
$5 \cdot 10^{-7}$ M	0	1,6	4,8	1,4	5,4
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	1,4	5,0	1,3	4,8
	$10^{-6}$ M	1,8	7,6	1,4	5,0
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	1,7	4,1	1,3	4,5
$10^{-6}$ M	0	1,3	4,8	1,7	2,6
	$5 \cdot 10^{-7}$ M	pas de racine	-	1,3	2,1
	$10^{-6}$ M	2,3	3,3	1,1	4,4
	$5 \cdot 10^{-6}$ M	1,6	5,5	1,6	3,9

TABLEAU 8. Action de la solanine et de la kinétine employées seules ou associées sur les systèmes racinaire et stolonifère de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 106 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C. M, Molarité



4. Action de la solanine et de l'acide gibbérélique sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

Ces expériences ont été réalisées pour savoir si la solanine a une action semblable ou différente de celle de l'acide gibbérélique ; en effet, les gibbérélines retardent la tubérisation et ce retard est proportionnel à la dose employée et, à forte concentration, elles l'empêchent totalement (TIZIO 1967c).

Dans cette série d'essais, nous avons étudié l'action de la solanine aux doses de 0,  $10^{-7}$ M ;  $5.10^{-7}$ M et  $10^{-6}$ M et de l'acide gibbérélique aux doses de 0,  $3.10^{-8}$ M  $3.10^{-7}$ M et  $3.10^{-6}$ M, sur les fragments de germes de Pomme de terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C.

On constate que l'acide gibbérélique seul, non seulement retarde la tubérisation mais encore, l'inhibe à forte concentration. Ce retard et cette inhibition sont en rapport avec la dose employée et l'inhibition est totale en présence d'une dose d'AG de  $3.10^{-6}$ M (Tableau 9). Ces résultats confirment ceux obtenus par d'autres auteurs (TIZIO, 1964 c ; OKAZAWA, 1967) .

La solanine ajoutée au milieu à la dose de  $10^{-6}$ M et employée seule ou associée à l'acide gibbérélique à différentes concentrations, provoque un retard de tubérisation qui est accru en présence d'une dose forte d'acide gibbérélique. Nous avons d'autre part constaté que l'acide gibbérélique à faible concentration ( $3.10^{-8}$ M) favorise le système racinaire et aux fortes doses, l'inhibe.

En association , ces deux substances agissent de la même façon sur la tubérisation et le développement du système racinaire c'est-à-dire, plus leur concentration

est élevée, plus l'inhibition est importante (Tableau 10).

Mais, on peut remarquer qu'en présence d'acide gibbérellique, la croissance des tiges stolonifères augmente, parallèlement à la dose employée, contrairement à l'action de la solanine. L'action de l'acide gibbérellique sur le système stolonifère, est partiellement inhibée par la solanine. Autrement dit, la solanine antagonise partiellement l'action stimulante que l'AG<sub>3</sub> exerce sur l'allongement caulinaire.

Nous avons déjà signalé que la solanine modifiait la morphologie des tubercules formés in vitro. Dans cette expérience, nous avons observé qu'en présence d'acide gibbérellique, cet effet est plus remarquable, les tubercules formés sont plus allongés et plus ramifiés, qu'en présence de l'un ou l'autre de ces deux facteurs.

Dose de Solanine	Dose d'AG <sub>3</sub>	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50% des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 100 jours de culture	Nombre moyen de tubercules par explantat
0	0	20	100	1,8
	3.10 <sup>-8</sup> M	32	92	2,3
	3.10 <sup>-7</sup> M	47	100	1,9
	3.10 <sup>-6</sup> M	supérieur à 100 jours	0	0
10 <sup>-7</sup> M	0	35	100	2,0
	3.10 <sup>-8</sup> M	32	92	1,6
	3.10 <sup>-7</sup> M	36	100	2,0
	3.10 <sup>-6</sup> M	supérieur à 100 jours	16	0,4
5.10 <sup>-7</sup> M	0	34	100	1,0
	3.10 <sup>-8</sup> M	30	100	1,4
	3.10 <sup>-7</sup> M	44	92	2,3
	3.10 <sup>-6</sup> M	supérieur à 100 jours	16	0,4
10 <sup>-6</sup> M	0	48	100	2,0
	3.10 <sup>-8</sup> M	48	83	1,2
	3.10 <sup>-7</sup> M	50	75	2,0
	3.10 <sup>-6</sup> M	supérieur à 100 jours	-	-

TABLEAU 9. Action de la solanine et de l'acide gibbéréllique employés seuls ou associés sur la tubérisation de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés *in vitro* à l'obscurité à 20-21°C.  
M, Molarité ; AG<sub>3</sub>, Acide Gibbéréllique



Dose de Solanine	Dose d'AG <sub>3</sub>	Nombre moyen de racines par explantat	Poids moyen de racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par explantat	Longueur moyenne des stolons (cm)
0	0	5,0	38,0	1,1	8,2
	3.10 <sup>-8</sup> M	6,5	32,0	1,3	8,4
	3.10 <sup>-7</sup> M	3,0	23,5	1,3	9,2
	3.10 <sup>-6</sup> M	2,0	10,3	1,2	12,5
10 <sup>-7</sup> M	0	5,3	16,8	1,3	6,7
	3.10 <sup>-8</sup> M	4,0	20,8	1,2	7,4
	3.10 <sup>-7</sup> M	3,2	18,0	1,4	7,4
	3.10 <sup>-6</sup> M	2,5	18,4	1,3	9,4
5.10 <sup>-7</sup> M	0	2,6	4,4	1,9	6,1
	3.10 <sup>-8</sup> M	2,2	7,0	1,5	7,3
	3.10 <sup>-7</sup> M	2,0	11,1	1,3	7,1
	3.10 <sup>-6</sup> M	1,6	9,4	1,7	8,3
10 <sup>-6</sup> M	0	2,0	4,0	1,4	5,4
	3.10 <sup>-8</sup> M	1,4	3,0	1,2	6,0
	3.10 <sup>-7</sup> M	1,9	4,5	1,5	7,1
	3.10 <sup>-6</sup> M	1,2	2,3	1,8	10,1

TABLEAU 10. Action de la solanine et de l'acide gibbéréllique employés seuls ou associés sur les systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 100 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.  
M, Molarité ; AG<sub>3</sub>, Acide Gibbéréllique

5. Action de la solanine et du CCC sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

L'objet de cet essai a été d'étudier l'action de la solanine associée au CCC, qui a la propriété d'inhiber la synthèse des gibbérellines et aussi d'augmenter la précocité de la tubérisation. La solanine employée aux doses de 0,  $10^{-7}$ M,  $5.10^{-7}$ M et  $10^{-6}$ M et le CCC de 0,  $10^{-5}$ M,  $10^{-4}$ M et  $3.10^{-4}$ M ont été ajoutés seuls ou associés au milieu de base (§ III, 2.a.). Les cultures sont placées à 20-21°C pendant 7 jours à la lumière naturelle et ensuite à l'obscurité.

Les résultats réunis dans les Tableaux 11 et 12, montrent que le chlorure de (2 chloroethyl) triméthyl ammonium (CCC) avance la tubérisation. Il diminue l'allongement des tiges stolonifères mais modifie peu le développement des racines. Plus la dose de CCC est forte, plus la tubérisation est précoce et plus les tiges stolonifères sont courtes. A la dose de  $3.10^{-4}$ M, 50 % des germes ont tubérisé 14 jours avant le témoin. Ces résultats confirment ceux obtenus par TIZIO (1969).

Si le CCC est employé avec une dose faible de solanine, la tubérisation reste précoce, mais associé à de fortes doses de solanine ( $10^{-6}$ M), il n'y a plus d'avance de la tubérisation, on observe même un certain retard, bien que les tiges soient de plus en plus courtes. On peut constater que la solanine employée seule ou avec le CCC exerce le même effet d'inhibition sur les racines. Les actions inhibitrices exercées par chacun de ces facteurs s'ajoutent.

Dose de Solanine	Dose de C.C.C.	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50% des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 85 jours de culture.
0	0	35	100
	$10^{-5}$ M	30	100
	$10^{-4}$ M	27	92
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	21	100
$10^{-7}$ M	0	36	100
	$10^{-5}$ M	34	83
	$10^{-4}$ M	30	100
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	24	100
$5 \cdot 10^{-7}$ M	0	40	58
	$10^{-5}$ M	40	83
	$10^{-4}$ M	40	67
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	27	92
$10^{-6}$ M	0	46	67
	$10^{-5}$ M	36	83
	$10^{-4}$ M	tubérisation inférieure à 50%	42
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	50	58

TABLEAU 11. Action de la solanine et du chlorure de (2-chloroethyl) triméthyl ammonium (CCC) employés seuls ou associés sur la tubérisation de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C.  
M, Molarité



Dose de Solanine	Dose de CCC	Nombre moyen de racines par ex-plantat	Poids moyende racines par ex-plantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par ex-plantat	Longueur moyenne des stolons (cm)
0	0	4,5	30,9	1,4	6,9
	$10^{-5}$ M	4,6	32,0	1,6	6,4
	$10^{-4}$ M	3,8	16,4	1,0	5,9
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	3,8	18,0	1,1	2,1
$10^{-7}$ M	0	2,8	20,8	1,3	6,8
	$10^{-5}$ M	2,1	18,0	1,4	6,4
	$10^{-4}$ M	3,0	11,7	1,2	5,7
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	2,0	7,0	1,0	4,3
$5 \cdot 10^{-7}$ M	0	1,6	6,6	1,0	6,6
	$10^{-5}$ M	1,3	3,7	1,5	5,3
	$10^{-4}$ M	2,3	8,0	1,0	5,0
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	2,3	6,5	1,3	2,9
$10^{-6}$ M	0	1,3	5,5	1,3	4,7
	$10^{-5}$ M	1,6	7,4	1,3	4,6
	$10^{-4}$ M	2,0	7,0	1,3	2,8
	$3 \cdot 10^{-4}$ M	1,0	1,8	1,1	2,8

TABLEAU 12. Action de la solanine et du chlorure de (2-chloroethyl) triméthyl ammonium (CCC) employés seuls ou associés sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C après 85 jours de culture.

M, Molarité



6. Action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à différentes températures

Les résultats concernant la culture in vitro des fragments de germes de Pomme de Terre que nous avons exposés jusqu'à présent, ont été obtenus sur des cultures réalisées à la température de 20-21°C. Nous avons étudié l'action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés à différentes températures. La solanine a été ajoutée au milieu de base (§ III 2.a.) aux doses de 0,  $10^{-7}$ M,  $5 \cdot 10^{-7}$ M,  $10^{-6}$ M, et  $5 \cdot 10^{-6}$ M pour chaque condition de température. Après l'ensemencement, les cultures sont placées directement aux températures de 10, 15, 20, 25, et 30°C à l'obscurité. En absence d'une chambre à 30°C, nous avons utilisé une étuve à cet effet. 24 explantats ont été utilisés pour chaque condition de solanine.

Nous avons constaté que 50 % des germes cultivés dans un milieu sans solanine ont tubérisé à peu près en même temps pour des températures allant de 10 à 20°C (Fig.3a); on observe un effet retardant sur la tubérisation à 25°C ainsi qu'une inhibition totale à 30°C. A 10°C, la tubérisation des germes est à peu près la même en absence ou en présence de solanine ; à 15°C la solanine favorise la tubérisation. A 20°C il y a une certaine action retardatrice aux doses de  $5 \cdot 10^{-7}$ M à  $5 \cdot 10^{-6}$ M. L'action retardatrice de la solanine sur la tubérisation est considérablement accrue à 25°C et la tubérisation est totalement inhibée à 30°C.

La Figure 3 b montre qu'en absence de solanine, plus la température à laquelle les cultures sont exposées est élevée, plus le système racinaire est développé. Une augmentation de température stimule le développement des racines. Dans l'ensemble des résultats, on peut constater que la quantité de racines en général, diminue lorsque la dose de solanine augmente pour toutes les températures sauf 10°C.

On observe qu'une élévation de température stimule les tiges stolonifères. La solanine semble diminuer légèrement la croissance du système stolonifère et cet effet est d'autant plus important que la température est plus basse. Au contraire, à 25°C, la solanine favorise la croissance des tiges stolonifères et à haute température (30°C) elle réduit celle-ci (Fig. 4). Dans certaines conditions de température, la solanine pourrait exercer une action stimulatrice sur le développement du système stolonifère (Fig. 4), des essais complémentaires devraient être entrepris pour préciser ce point.

De l'ensemble des résultats (Fig. 3 et 4), on peut déduire que la température optimale pour la tubérisation des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro pourrait être de 15 à 20°C. Au-dessus de cette température, on observe des effets retardants pour la tubérisation et fortement stimulants pour les systèmes racinaire et stolonifère.

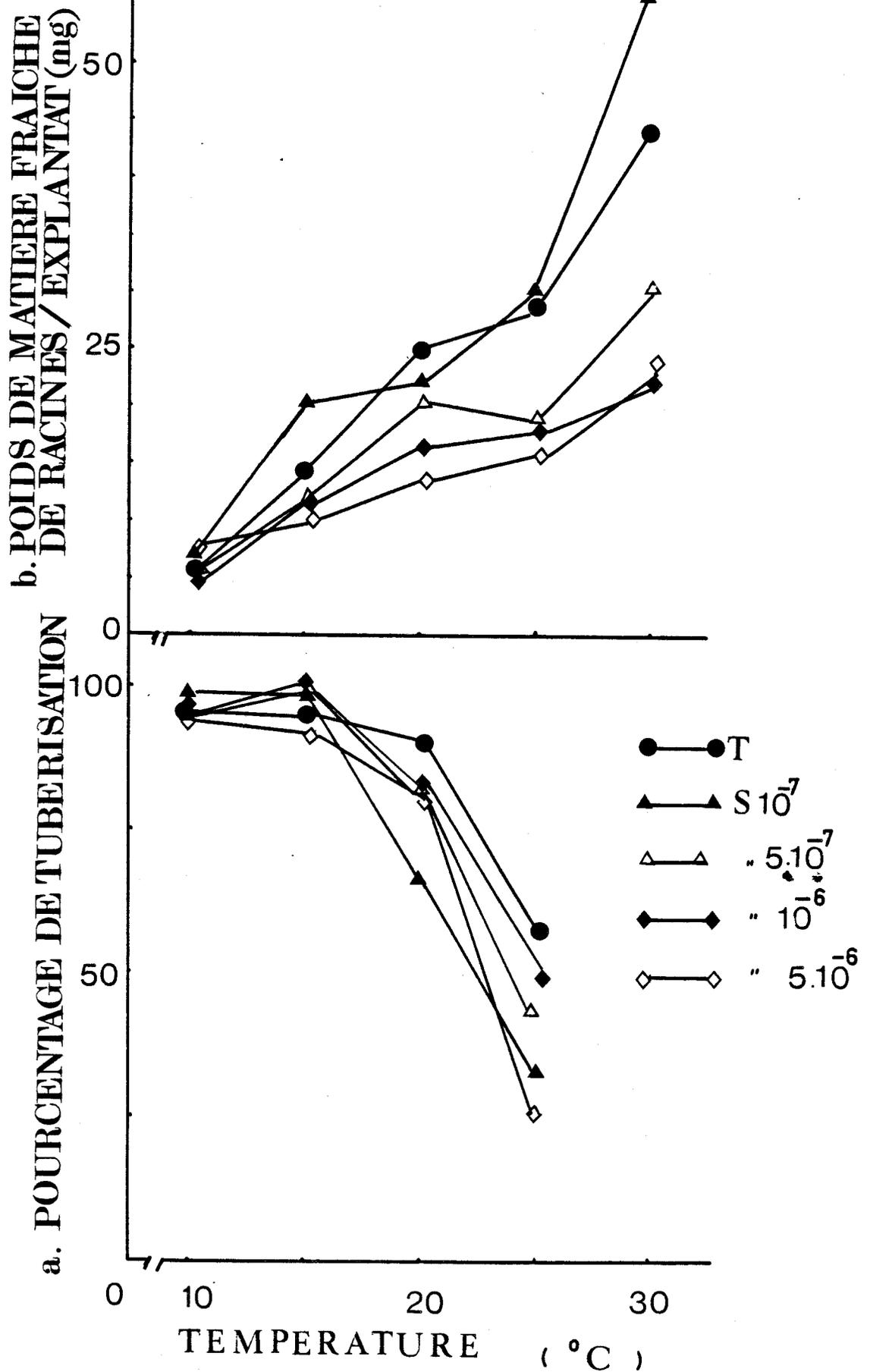


Fig. 3. Action de la température sur (a) la tubérisation et (b) la croissance de racines par des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés *in vitro* après 98 jours de culture à l'obscurité en présence de différentes concentrations de solanine.



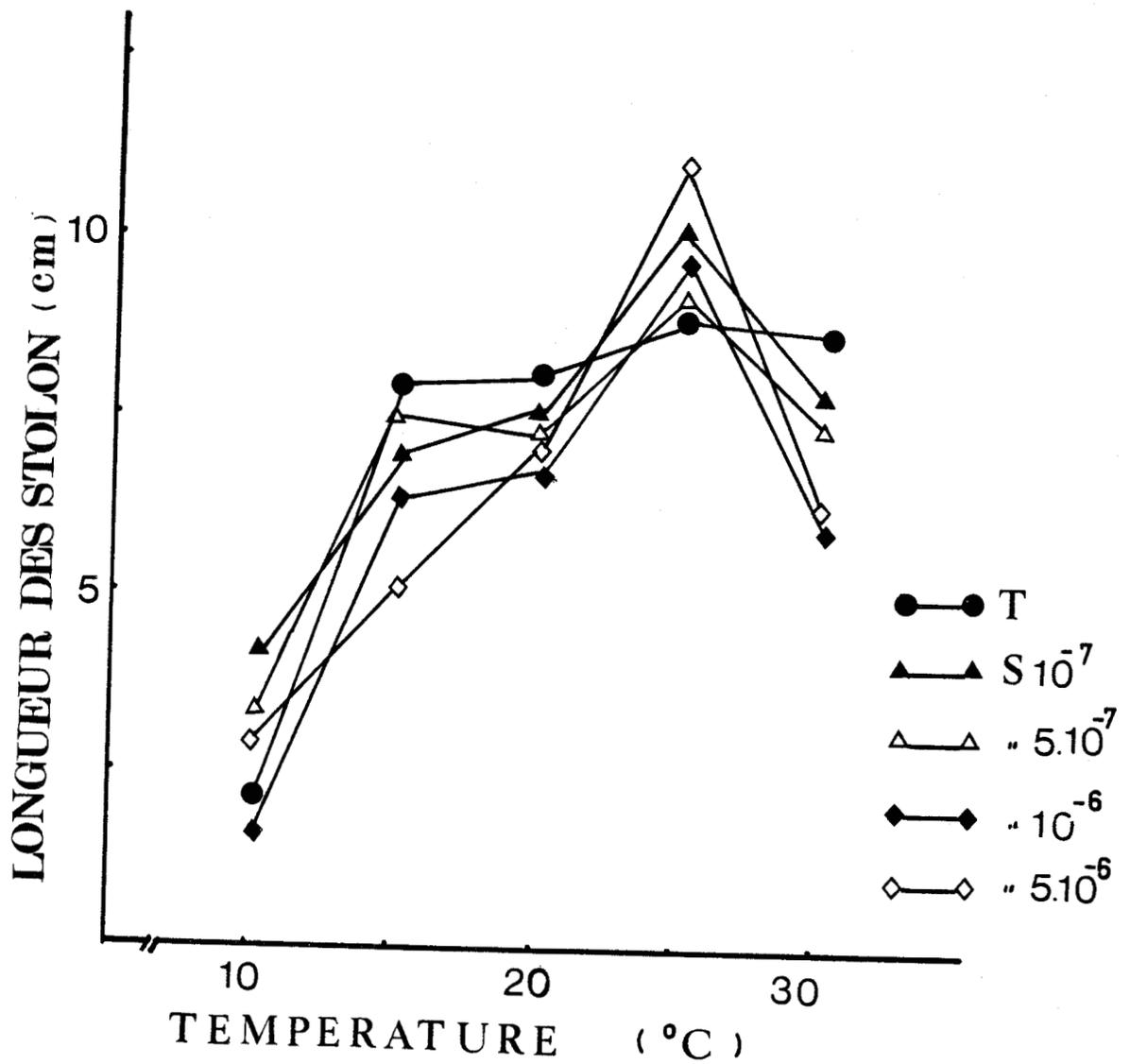


Fig. 4. Action de la température sur la croissance des stolons développés sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés *in vitro* après 98 jours de culture à l'obscurité en présence de différentes concentrations de solanine.

7. Action de la solanine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à différentes durées d'éclairement

Nous avons étudié l'influence de l'éclairement journalier sur l'action exercée par la solanine dans le mécanisme de la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère, de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. Les cultures sont réalisées sur un milieu de base (§III 2.a.) renfermant de la solanine aux doses de 0,  $10^{-7}M$ ,  $5.10^{-7}M$ ,  $10^{-6}M$ ,  $5.10^{-6}M$  pour chaque condition de photopériodes : 0, 8, 12. et 24 H. L'éclairement a été fourni par des tubes fluorescents de type Blanc DE LUX (General Electric, 40 W) dont l'intensité lumineuse était comprise entre 1200 et 1500 lux au niveau des tubes de culture. Immédiatement après l'ensemencement, les cultures sont placées dans les conditions de photopériodes souhaitées, à la température de 20-21°C.

L'examen de la Figure 5a permet de constater que la tubérisation de 50 % des germes cultivés dans le milieu sans solanine (témoin) est retardée de 13 jours pour des éclaircements journaliers de 8 et 12 Heures retard est de 41 jours pour un éclairciment continu (24 H par jour) par rapport au témoin cultivé à l'obscurité continue. Nos résultats sur l'action de la lumière continue, confirment ceux obtenus par TIZIO (1979).

D'après les résultats de la figure 5a on constate qu'à l'obscurité, la solanine ajoutée au milieu à fortes concentrations ( $10^{-6}M$  et  $5.10^{-6}M$ ), retarde la tubérisation ; par contre, 8 H d'éclairement par jour suffisent pour avancer la tubérisation de 13 jours même en présence de solanine à  $5.10^{-6}M$  ; si la durée d'éclairement est plus longue



(12 ou 24 H par jour), la solanine avance la tubérisation, mais seulement si sa concentration est forte ( $10^{-6}M$  et  $5.10^{-6}M$ ). Au contraire, quand la durée d'éclairement est longue (24 H) une dose faible de solanine ( $10^{-7}M$ ) retarde la tubérisation, alors qu'une dose forte antagonise l'effet retardant de la lumière.

On peut déduire que la solanine antagonise totalement l'action retardatrice de la lumière sur la tubérisation quand l'éclairement est de 8 H par jour. On constate également qu'en lumière continue, la solanine à partir de la dose de  $5.10^{-7}M$  antagonise fortement l'action retardatrice exercée par la lumière sur la tubérisation.

On constate de nouveau que la solanine inhibe les racines de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité (Fig. 5 b); cette inhibition est en rapport avec la dose employée. On peut remarquer que l'action inhibitrice de la solanine sur les racines est la même quelles que soient les durées d'éclairement qui elles-mêmes n'ont pas d'action sur le développement des racines.

La Figure 6 montre que la lumière stimule le développement des stolons, mais il semble que la stimulation ne dépende pas de la durée d'éclairement, la solanine paraîtrait renforcer l'effet de la lumière.

a. NOMBRE DE JOURS NECESSAIRES b. POIDS DE MATIERE FRAICHE  
 POUR OBTENIR 50 % DE TUBERISATION, DE RACINE PAR EXPLANTAT  
 en mg.

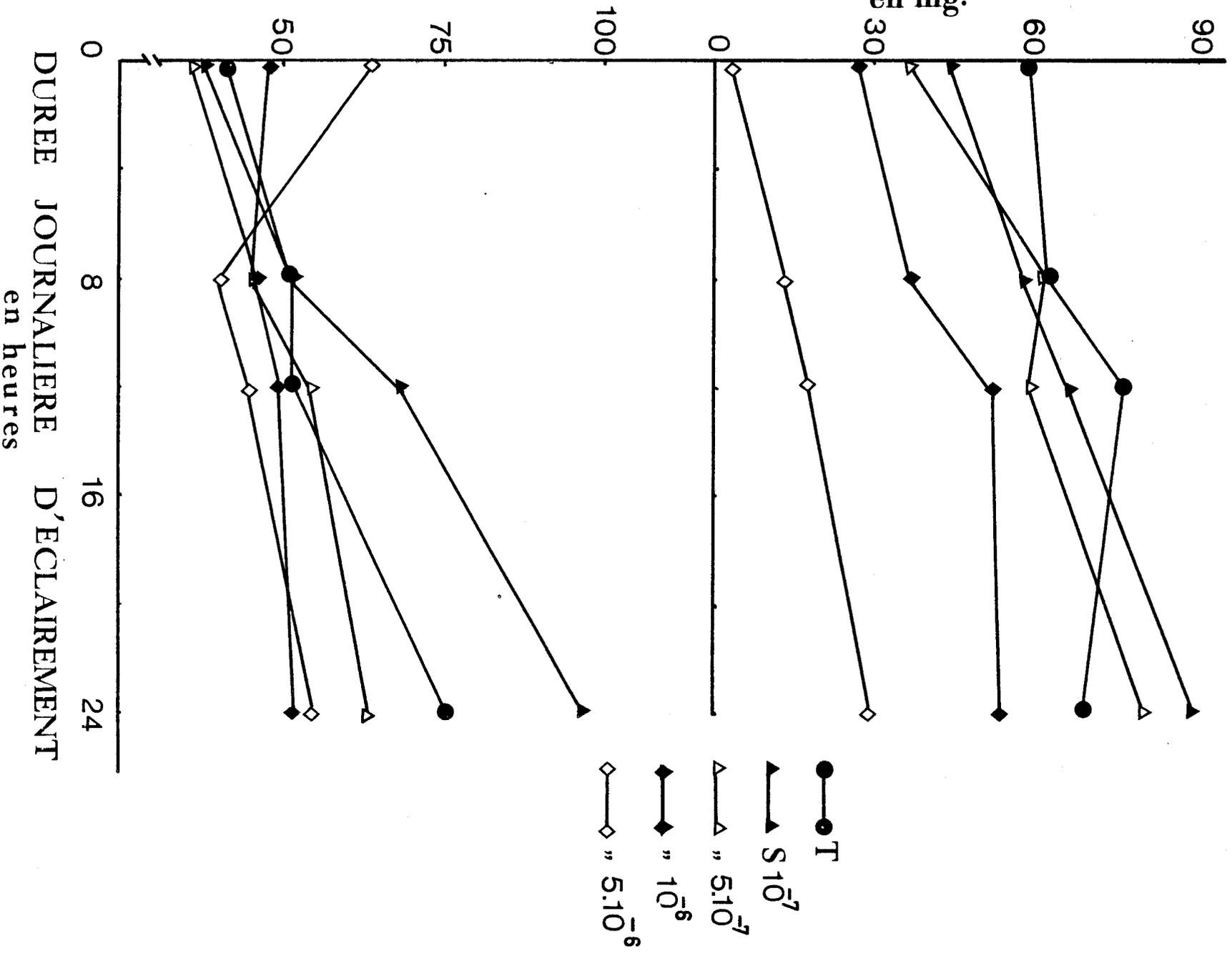


Fig. 5. Action de l'éclaircissement sur (a) la tuberisation et (b) la croissance des racines de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés *in vitro* après 100 jours de culture à 20-21°C et en présence de différentes concentrations de solanine.

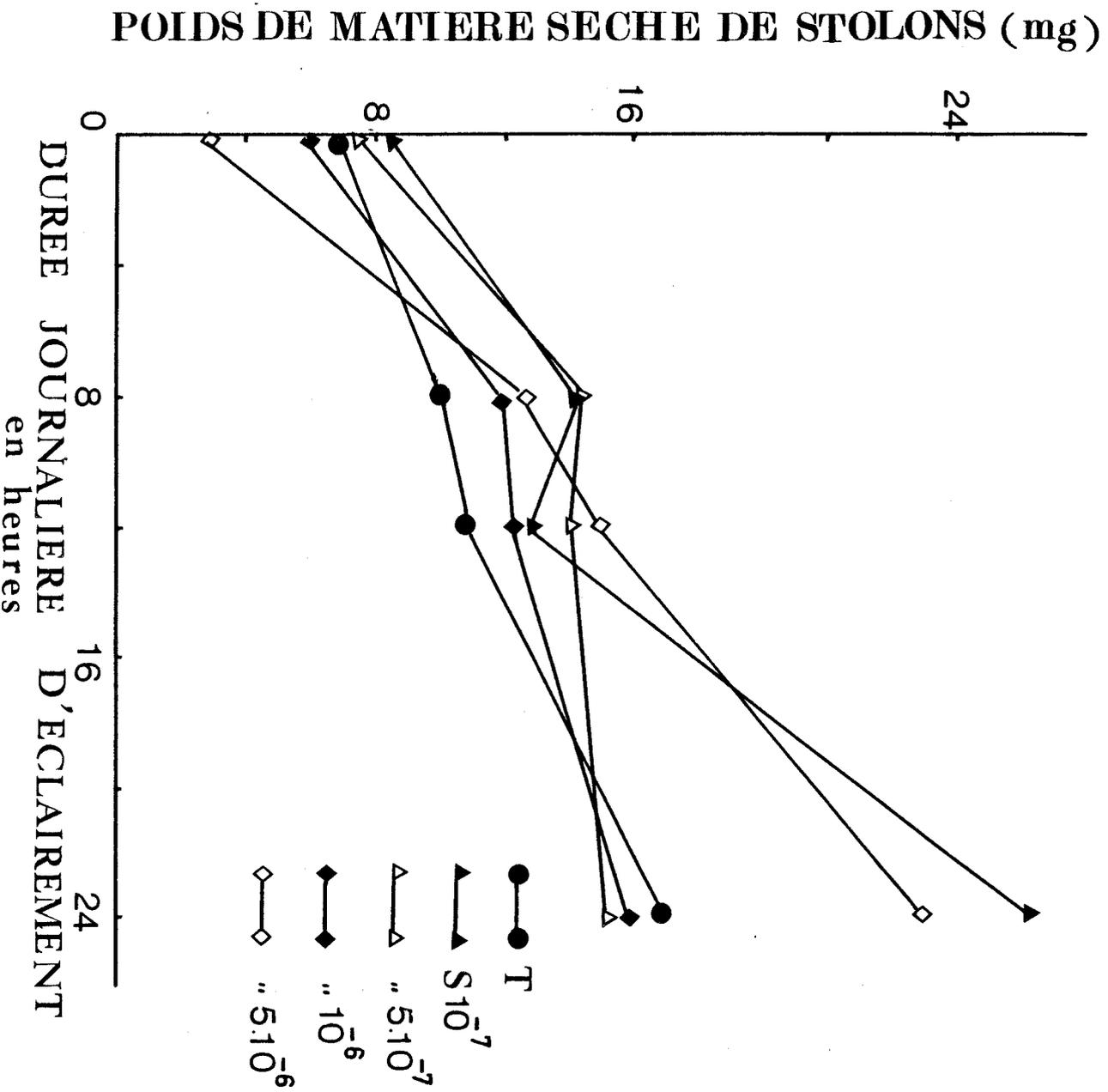


Fig. 6. Action de l'éclaircissement sur la croissance des stolons développés sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 100 jours de culture à 20-21°C et en présence de différentes concentrations de solanine.

## B. ACTION DE LA CHACONINE

A la suite des résultats obtenus avec la solanine sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère (Tableaux 1 à 12 et Fig. 3 à 6) de fragments de germes, de tiges et de boutures, nous avons pensé qu'il pourrait être intéressant d'étudier le rôle de la chaconine, autre glycoalcaloïde important de la Pomme de Terre, sur ces deux phénomènes. Comme précédemment, on a utilisé la Pomme de Terre de la variété Bintje.

### B.1. Action de la chaconine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

Les expériences préliminaires que nous avons entreprises concernent l'action de la chaconine sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. La chaconine a été ajoutée au milieu de base (§ III. 2.a.) aux doses de 0,  $10^{-7}$ M,  $5.10^{-7}$ M,  $10^{-6}$ M, et  $5.10^{-6}$ M. Après ensemencement, les cultures sont exposées à la lumière naturelle du laboratoire à 20-21°C pendant 7 jours et puis transférées à l'obscurité.

Les résultats réunis dans les Tableaux 13 et 14, montrent que la chaconine ajoutée au milieu de culture, à faible concentration, exerce peu d'action sur la tubérisation et elle la retarde à forte concentration ( $5.10^{-6}$ M). Elle provoque une action inhibitrice sur le système racinaire et cette inhibition est en rapport avec la dose employée. On observe également qu'à forte dose elle inhibe la croissance des tiges stolonifères.

Conditions	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50% des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 100 jours de culture	Nombre moyen de tubercules par explantat
Témoin	42	100	2,0
Ch $10^{-7}$ M	44	100	1,6
Ch $5 \cdot 10^{-7}$ M	36	100	1,8
Ch $10^{-6}$ M	38	100	1,8
Ch $5 \cdot 10^{-6}$ M	-	25	0,4

TABLEAU 13. Action de la chaconine sur la tubérisation de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C  
Ch, Chaconine  
M, Molarité

Conditions	Nombre moyen de racines par explantat	Poids moyen des racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par explantat	Longueur moyenne des stolons cm
Témoin	4,5	24,3	1,3	7,5
Ch $10^{-7}$ M	5,7	35,4	1,1	8,7
Ch $5 \cdot 10^{-7}$ M	3,4	18,3	1,0	8,9
Ch $10^{-6}$ M	2,1	6,7	1,0	7,3
Ch $5 \cdot 10^{-6}$ M	0,1	0,3	0,6	0,9

TABLEAU 14. Action de la chaconine sur les systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 100 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.  
Ch, Chaconine  
M, Molarité



B.2. Action de la chaconine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de segments de tiges de Pomme de Terre cultivés in vitro

Les expériences que nous allons considérer pour cette étude ont été réalisées sur des segments de tiges prélevés sur des plantes de Pomme de Terre, non tubérisées, cultivées pendant 40-45 jours (jours courts) en serre. Les tiges ont été formées par germinations de tubercules placés dans un récipient en plastique contenant de la vermiculite. Ceux-ci ont été placés en serre à une température de 24-25°C et arrosés deux fois par semaine avec une solution minérale de WHITE diluée de moitié.

Pour l'ensemencement des explantats, comme précédemment, les fragments sont cultivés dans un milieu de base (§ III, 2.a.) renfermant de la chaconine aux doses de 0,  $10^{-6}M$ ,  $5 \cdot 10^{-6}M$  et  $10^{-5}M$ . Les cultures sont placées directement à l'obscurité à 20-21°C.

On observe que la chaconine aux concentrations de  $10^{-6}M$  et  $5 \cdot 10^{-6}M$  stimule la tubérisation mais à la dose de  $10^{-5}M$  elle l'inhibe (Tableau 15). Une fois encore, on constate l'action inhibitrice de la chaconine sur le développement des racines et cette inhibition est en rapport avec la dose employée (Tableau 16). A forte concentration, elle empêche l'allongement des tiges (Tableau 16).

Dans ces expériences, nous avons remarqué que des feuilles petites et simples se développent sur les tiges stolonifères (Planche III, Fig. 1, 2), comme nous l'avons observé en présence de solanine (Planche II, Fig. 1,2). Ces tiges sont plus épaisses que celles du témoin.

Conditions	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50 % des ex-plantats	Pourcentage d'ex-plantats tubérisés après 80 jours de culture
Témoin	51	100
Ch $10^{-6}$ M	17	90
Ch $5 \cdot 10^{-6}$ M	27	75
Ch $10^{-5}$ M	tubérisation inférieure à 50 %	42

TABLEAU 15. Action de la chaconine sur la tubérisation de segments de tiges prélevés sur des plantes développées en serre et cultivés in vitro à l'obscurité à 20-21°C.  
Ch, Chaconine et M, Molarité

Conditions	Nombre moyen de racines par ex-plantat	Poids moyen de racines par ex-plantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par ex-plantat	Longueur moyenne des stolons cm
Témoin	1,9	5,6	1,0	5,7
Ch $10^{-6}$ M	1,0	5,0	1,2	4,5
Ch $5 \cdot 10^{-6}$ M	0,1	0,2	1,2	5,2
Ch $10^{-5}$ M	0,1	0,1	1,7	2,6

TABLEAU 16. Action de la chaconine sur les systèmes racinaire et stolonifère de segments de tiges prélevés sur des plantes développées en serre et cultivés in vitro après 80 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.  
Ch, Chaconine et M, Molarité

## PLANCHE III

Action de la chaconine sur des fragments de tiges  
de Pomme de Terre cultivées in vitro

Fig. 1. Fragments de tiges de Pomme de Terre:  
à gauche le témoin et à droite en présence de  
chaconine à la dose de  $5 \cdot 10^{-6} M$ .

Fig. 2. Fragments de tiges de Pomme de Terre :  
à gauche le témoin et à droite en présence de  
chaconine à la dose de  $10^{-5} M$ .

On observe, en présence de chaconine, une formation  
de petites feuilles au niveau des tiges et une inhibition  
du système racinaire.

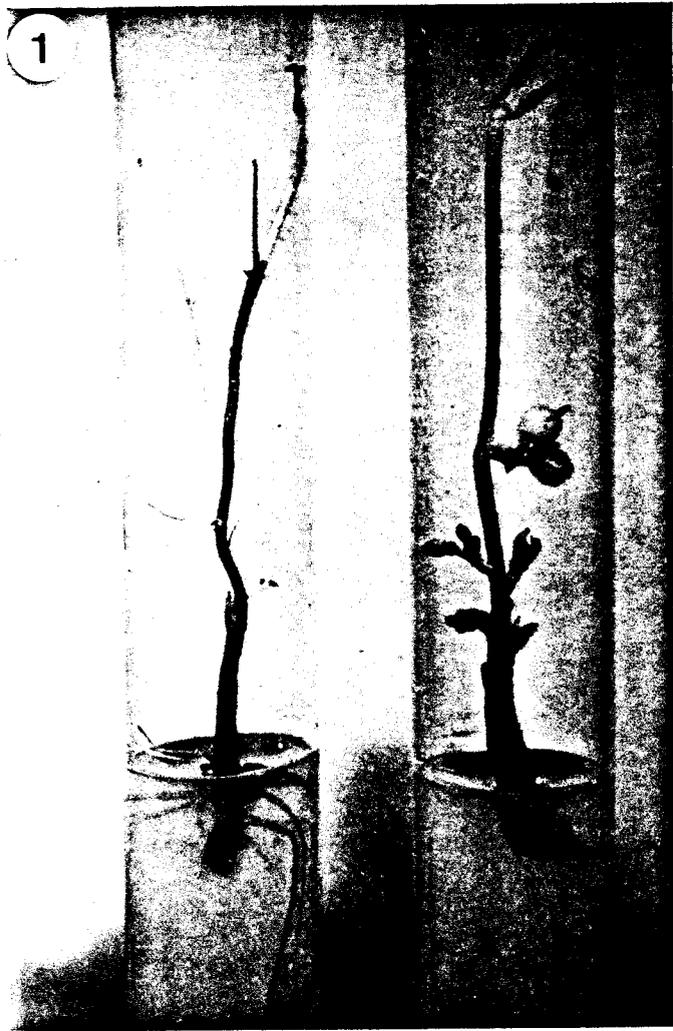


PLANCHE N°III

BUS  
VILLE

### C. ACTION DE LA TOMATINE

#### C.1. Action de la tomatine sur la tubérisation et le développement des systèmes racinaire et stolonifère de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

Afin de savoir si seuls les glycoalcaloïdes extraits de la Pomme de Terre étaient actifs dans les phénomènes analysés, nous avons pensé étudier un glycoalcaloïde de la Tomate, plante de la même famille que la Pomme de Terre; des essais encore préliminaires ont été réalisés en présence de la tomatine. Ce glycoalcaloïde est constitué de l'aglycone tomatidine, d'une structure voisine de celle de la solanidine et d'une chaîne glycosidique comprenant xylose, glucose et galactose (BOLL et ANDERSEN, 1962).

Nous avons cultivé in vitro des fragments de germes de Pomme de Terre sur le milieu de base (§ III 2.a.) auquel on a ajouté différentes doses ( $0$ ,  $5 \cdot 10^{-7}M$ ,  $10^{-6}M$ ,  $5 \cdot 10^{-6}M$  et  $10^{-5}M$ ) de tomatine afin d'éprouver l'action de cette substance sur la tubérisation et sur le développement des systèmes racinaire et stolonifère. Comme précédemment, les cultures sont exposées à la lumière naturelle du laboratoire pendant 7 jours à  $20-21^{\circ}C$  et puis transférées à l'obscurité.

Les résultats du Tableau 17 montrent que la tomatine à forte concentration ( $10^{-6}M$  et  $5 \cdot 10^{-6}M$ ) retarde la tubérisation tout en maintenant un fort pourcentage d'explants tubérisés ; cette substance n'exerce pas d'inhibition sur la formation et l'allongement des racines et elle diminue très peu la croissance des tiges stolonifères (Tableau 18).

Condition	Nombre de jours nécessaires pour obtenir la tubérisation de 50% des germes	Pourcentage de germes tubérisés après 130 jours de culture
Témoin	41	88
T $5 \cdot 10^{-7}$ M	41	100
T $10^{-6}$ M	52	100
T $5 \cdot 10^{-6}$ M	67	92
T $10^{-5}$ M	52	83

TABLEAU 17. Action de la tomatine sur la tubérisation de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à 20-21°C à l'obscurité

T, Tomatine

M, Molarité

Condition	Nombre moyen de racines par explantat	Poids moyen des racines par explantat exprimé en mg de matière fraîche	Nombre moyen de stolons par explantat	Longueur moyenne des stolons (cm)
Témoin	5,4	39,4	1,1	10,6
T $5 \cdot 10^{-7}$ M	5,2	32,8	1,0	10,1
T $10^{-6}$ M	5,4	29,6	1,0	10,4
T $5 \cdot 10^{-6}$ M	5,0	35,3	1,0	9,5
T $10^{-5}$ M	5,9	35,8	1,1	9,5

TABLEAU 18. Action de la tomatine sur les systèmes racinaire et stolonifère de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro, après 130 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.



#### D. ESTIMATION QUANTITATIVE DE LA SOLANINE

Ce chapitre est consacré aux résultats concernant le dosage de la solanine dans quelques organes de la Pomme de Terre tels que des germes, des feuilles et des tubercules de plantes cultivées en champ dans les conditions naturelles, ainsi que des tubercules formés in vitro. Nous avons employé la méthode de dosage décrite par BAKER et al. (1955) et modifiée par PAQUIN et LEPAGE (1963) (§ III 2.d.).

##### D.1. Extraction de la solanine dans les germes

Deux grammes de germes (5 à 6 cm de longueur environ) développés à l'obscurité sont broyés et extraits pour le dosage de la solanine selon la méthode décrite dans le chapitre III 2.d.

Nous avons obtenu 474 mg de solanine pour 100 g de matière fraîche de germes de Pomme de Terre (voir Tableau 20).

##### D.2. Extraction de la solanine dans des feuilles prélevées sur des plantes cultivées dans les conditions naturelles en champ d'expérimentation

Nous avons dosé la solanine dans des jeunes feuilles de plantes cultivées dans le champ d'expérimentation du laboratoire.

Trois feuilles sont prélevées à l'extrémité des tiges à l'exclusion du bourgeon terminal :

- 1) un mois après la plantation du tubercule, à l'état de croissance végétative et avant tubérisation
- 2) au début de la tubérisation

On constate que les jeunes feuilles renferment davantage de solanine dans une plante jeune que dans une plante âgée induite pour la tubérisation (Tableau 19).

Matériel extrait	Poids de matière fraîche exprimé en g	Teneur en solanine exprimée en mg pour 100 g de matière fraîche
1. Jeunes feuilles prélevées à l'extrémité de plantes âgées d'1 mois	5	124.8
-----		
2. Jeunes feuilles prélevées à l'extrémité des tiges de plantes au début de la tubérisation, âgées de 2 mois	5	59.3

TABLEAU 19. Teneur en solanine dans des jeunes feuilles de plantes de Pomme de Terre de la variété Bintje cultivées en champ.

### D.3. Extraction de la solanine dans les tubercules

La teneur en solanine a été déterminée dans les tubercules mères, les tubercules cultivés en champ d'expérimentation en conditions naturelles et les tubercules néoformés en culture in vitro. Les résultats sont réunis dans le Tableau 20.

#### D.3.1. Tubercules mères et tubercules cultivés en champ d'expérimentation

Des tubercules mères, c'est-à-dire les tubercules que nous avons utilisés pour réaliser les cultures de germes, ont été analysés au moment de l'ensemencement. A cette époque, les tubercules contiennent 7,6 mg de solanine pour 100 g de matière fraîche, alors que des tubercules matures analysés tout de suite après la récolte ont 6,8 mg de solanine pour 100 g de matière fraîche. Ces tubercules ont une taille de 5 à 10 cm (50 à 80 g) (Tableau 20). A la

suite du stockage de 6 à 7 mois à 4 - 5°C, la teneur en eau ainsi que le poids du tubercule diminuent ce qui, selon WOLF et DUGGAR (1946) provoqueraient une augmentation de la quantité de solanine par unité de poids du tubercule mère.

En début de tubérisation, la teneur en solanine dans les tubercules dont la taille varie de 1 à 2 cm est légèrement plus élevée (8,5 mg pour 100 g de matière fraîche).

#### D.3.2. Tubercules formés in vitro

Les résultats sur la teneur en solanine dans les tubercules cultivés in vitro montrent que la quantité de solanine diminue à basse température (10°C) et s'élève avec l'augmentation de la température (Tableau 20).

Les tubercules obtenus à partir des germes cultivés dans un milieu contenant de la solanine ont une quantité de solanine plus élevée que le témoin. La teneur en solanine augmente en rapport avec la dose de solanine ajoutée au milieu de culture. L'ANA et l'AG<sub>3</sub> employés seuls ou associés à la solanine semblent diminuer la quantité de solanine dans les tubercules. En revanche, la kinétine l'augmente.

L'AG<sub>3</sub> s'oppose à l'accumulation de solanine dans le tubercule formé (Cf témoin).

Matériel extrait	Poids de matière fraîche sur lequel on réalise le dosage ( exprimé en g )	Teneur en solanine exprimée en mg pour 100 g de matière fraîche
Germes développés sur des tubercules placés à l'obscurité	2	474
Tubercule mère = plant de Pomme de Terre avant plantation, (taille 5 à 10 cm )	10	7,6
Tubercules récoltés en champ (taille 5 à 10 cm) à l'automne	10	6,8
Tubercules prélevés au début de la tubérisation (taille 1 à 2 cm )	10	8,5
Tubercules néoformés <u>in vitro</u> : (taille 3 à 5 mm) Témoin	2	112
Tubercules néoformés <u>in vitro</u> en présence de :		
a) S $10^{-6}M$	2	124
b) S $5.10^{-6}M$	2	136
c) ANA $10^{-6}M$	0,7	88
d) ANA $10^{-6}M$ + S $10^{-6}M$	0,8	116
e) $AG_3$ $3.10^{-8}M$	1,0	88
f) $AG_3$ $3.10^{-8}M$ + S $5.10^{-6}M$	0,7	100
g) Kin. $5.10^{-6}M$	0,5	148
h) Kin. $5.10^{-6}M$ + S $5.10^{-6}M$	0,5	160
i) tubercules formés dans un milieu sans solanine et sans substance de croissance		
à 10°C	1,0	88
à 15°C	1,0	96
à 20°C	1,0	112



TABLEAU 20. Teneur en solanine dans des tubercules de Pomme de Terre cultivés en champ et in vitro.

## E. DOSAGE DES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS ET CAROTENOIDES

### E.1 Dosage des pigments chlorophylliens et des caroténoïdes dans les tiges stolonifères apparues sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro

En présence de solanine, des tiges stolonifères se sont développées sur les germes de Pomme de Terre cultivés in vitro à l'obscurité et ont présenté des petites feuilles chlorophylliennes différentes du témoin. Le témoin porte des écailles rudimentaires et non chlorophylliennes, alors qu'en présence de solanine, de véritables petites feuilles chlorophylliennes se développent. Ceci nous a conduit à doser les pigments chlorophylliens dans les tiges stolonifères néoformées. Les cultures sont réalisées dans les conditions habituelles sur un milieu de base (§ III 2.a.), exposées à la lumière naturelle du laboratoire pendant 7 jours à 20-21°C puis transférées à l'obscurité.

Nous avons dosé des pigments en prélevant par condition trois tiges stolonifères d'une longueur de 5 cm environ, apparues sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro en absence ou en présence de solanine et après 70 jours de culture.

Les résultats du Tableau 21 montrent que la teneur en chlorophylle est plus élevée dans les tiges qui se sont développées sur un milieu contenant de la solanine. Nous n'avons pas décelé de caroténoïdes chez le témoin ; on en trouve en présence de solanine. Nous constatons que la solanine stimule la synthèse des chlorophylles et des caroténoïdes à l'obscurité.

Conditions	Poids des échantillons (en mg de matière fraîche)	Chlorophylle Ca exprimée en $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche	Chlorophylle Cb exprimée en $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche	Caroténoïdes totaux C <sub>c</sub> exprimés en $\mu\text{g/g}$ de matière fraîche
Témoin	228	51,2	66,0	Non dosable
Solanine $10^{-6}\text{M}$	163	87,5	75,9	43,2
Solanine $5 \cdot 10^{-6}\text{M}$	236	75,9	81,3	31,0

TABLEAU 21. Teneur en pigments chlorophylliens dans les tiges stolonifères apparues sur des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro après 70 jours de culture à l'obscurité à 20-21°C.

## CONSIDERATIONS GENERALES

Alors que jusqu'à ce jour aucune expérimentation n'a mis en évidence un éventuel rôle physiologique pour les glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre, nous nous sommes posé la question de leur "utilité" pour la plante qui les produit. Notre travail a tenté d'y répondre en dégageant quelques faits mis en évidence en employant principalement la technique de culture de fragments de germes de Pomme de Terre in vitro et en confirmant les résultats obtenus par l'emploi de la méthode des boutures. Nous avons pu faire une comparaison entre l'action de la solanine et de la chaconine et avons effectué des dosages de solanine dans diverses conditions. Les variations de teneurs en solanine observées dans les feuilles et dans les tubercules de Pomme de Terre, nous permettent d'appuyer l'idée d'une action physiologique de ces composés.

Nous replacerons nos observations dans l'ensemble des divers mécanismes de régulation des phénomènes de morphogénèse que nous avons considérés. Nous rappellerons que le système expérimental que nous avons choisi nous a permis d'étudier à la fois le phénomène de tubérisation et le développement des systèmes racinaire et caulinaire. Par des dosages de solanine et de pigments chlorophylliens et caroténoïdes, nous avons abordé d'autres aspects du rôle possible des glycoalcaloïdes ; nous tenterons d'interpréter ces résultats.

### I. Glycoalcaloïdes et croissance du système racinaire

D'une manière générale, nous avons observé que la solanine mais aussi la chaconine exercent une action inhibitrice sur la croissance des racines des fragments de germes ou de tiges de Pomme de Terre, alors que la tomatine glycoalcaloïde de la tomate ne semble pas active sur ces matériels éprouvés. Les essais réalisés avec la tomatine sont préliminaires et d'autres expériences complémentaires devront être entreprises, afin de comparer l'action de la solanine et de la tomatine sur le développement de racines de diverses espèces.

On connaît l'importance des auxines dans l'initiation des méristèmes racinaires et la croissance des racines ; une concentration faible d'auxine favorise leur allongement alors qu'une concentration élevée, tout en stimulant leur induction inhibe leur croissance. Si la solanine est associée à l'acide naphthyl acétique dans le milieu de culture, on observe qu'elle antagonise l'action stimulante des faibles doses d'ANA et provoque une réduction importante du système racinaire (Tableau 6).

La kinétine inhibe le développement des racines à dose forte ( $5 \cdot 10^{-6} M$ ) mais on n'observe aucune interaction avec la solanine, qui elle-même inhibe le système racinaire. L'effet inhibiteur de la solanine s'oppose à celui de l'AG<sub>3</sub>. En association avec le CCC qui inhibe fortement les racines, il ne semble y avoir aucune interaction avec cette hormone.

La température joue un rôle important sur le développement du système racinaire. Nous voyons ici qu'entre 10 et 30°C, le développement du système racinaire est multiplié par 9 ; la solanine antagonise ce phénomène de manière nette, surtout entre 20 et 30°C. Il aurait été nécessaire d'opérer à une température plus élevée que 30°C, afin de définir une valeur optimale. Mais on peut penser aussi que l'absorption de la solanine exogène est favorisée par les hautes températures. Par contre, la durée d'éclairement n'a aucune action sur le développement des racines et l'action inhibitrice de la solanine n'est pas modifiée par celle-ci.

## II. Glycoalcaloïdes et croissance du système caulinaire et foliaire

Les essais que nous avons entrepris avec des fragments de germes ou de tiges de Pomme de Terre nous permettent de constater que la solanine exerce une action inhibitrice sur le développement des tiges stolonifères, quelle que soit la dose employée, alors que la chaconine ne l'inhibe qu'à forte concentration. Mais ces deux substances provoquent un développement de petites feuilles sur les tiges stolonifères cultivées à l'obscurité et ces stolons sont plus épais.

Ces glycoalcaloïdes favorisent le développement des feuilles. Nous mettons en évidence pour la première fois une propriété assez insolite, qui mériterait une étude plus ample sur divers matériels biologiques. Ces glycoalcaloïdes se comportent ici comme de véritables régulateurs du développement foliaire. De plus, une étude histologique devrait être entreprise sur la structure des feuilles et des stolons.

Nous constatons que l'action inhibitrice de la solanine sur le développement des stolons s'accroît quand on l'emploie associée à l'ANA, à la kinétine ou au CCC. Ces substances antagonisent l'action de la solanine sur le développement des feuilles. L'effet inhibiteur de la solanine est maintenu même en présence de l'AG<sub>3</sub>, employé aux doses de  $3 \cdot 10^{-8} \text{ M}$  à  $3 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ .

La température joue aussi un rôle important sur le développement du système caulinaire ; elle augmente la croissance des stolons jusqu'à 25°C et la diminue à 30°C. Par contre, la solanine l'inhibe jusqu'à 20°C, puis elle l'augmente et à 30°C, elle le réduit à nouveau. En présence de solanine la lumière stimule le développement des stolons mais de façon non régulière.

### III. Glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre et induction du phénomène de tubérisation

La solanine en général retarde la tubérisation et ce retard est proportionnel à la dose employée. Les tubercules formés en présence de solanine manifestent une morphologie particulière (Pl. I, fig. 5) ; plus la dose de solanine est élevée, plus les tubercules sont, soit allongés, soit ramifiés et produisent encore de nouvelles tiges. Il est vraisemblable que la solanine lève la dormance du tubercule néoformé ou empêche son entrée en dormance. Un essai complémentaire sur la germination de ces tubercules devrait être entreprise. En utilisant la quercétine dans le milieu de culture, la même particularité du tubercule a également été constatée (TIZIO et PAUPARDIN, 1970 ; PAUPARDIN, 1972).

La modification des tubercules a été observée dans d'autres expériences réalisées sur des fragments de tiges (Pl. II, Fig. 1,2) et des boutures feuillées (Pl. II, Fig. 4). La chaconine agit de la même façon que la solanine sur la tubérisation des fragments de germes de Pomme de Terre. Mais sur les fragments de tiges, la chaconine retarde la tubérisation seulement à forte concentration.

De l'examen du Tableau 5, on observe une relation directe entre la dose d'ANA et la précocité de la tubérisation. Ces résultats confirment ceux obtenus par TIZIO (1964a, b ; 1979). Il est intéressant de noter que l'ANA antagonise l'action de la solanine ; quand ces deux substances sont employées en association, la solanine antagonise la précocité de la tubérisation exercée par l'ANA ; l'ANA antagonise également l'action de la solanine sur la tubérisation, et les tubercules deviennent normaux.

Dans les expériences sur l'action de l'ANA (TIZIO (1964a, b) pense que l'auxine induit un facteur racinaire qui retarde la tubérisation. Or, PAUPARDIN (1972) a constaté que certains composés phénoliques, tels que l'acide caféique, accélèrent la précocité de la tubérisation tout en stimulant le développement du système racinaire. D'autre part, TRIPATHI (1973) étudiant le phénomène de tubérisation de germes de Pomme de Terre dans un milieu contenant différents sels minéraux, estime que le développement du système racinaire stimulé par l'addition de nitrate n'entraîne aucun retard de la tubérisation. A la suite de nos résultats où nous constatons un retard de tubérisation associé à une inhibition du système racinaire, il nous semble que la tubérisation n'est pas totalement dépendante du développement du système racinaire .

On a signalé qu'il existe plusieurs cytokinines chez la Pomme de Terre (TIZIO, 1966d ; FORSLINE et LANGILLE, 1976 ; KODA et OKAZAWA, 1977) mais leur rôle n'est pas encore établi de manière sûre (KODA et OKAZAWA, 1977). PALMER

et SMITH (1969), SMITH et PALMER (1970) et MINGO-CASTEL et al (1976) ont suggéré que la kinétine est nécessaire pour induire in vitro la tubérisation de la Pomme de Terre. Nos résultats montrent que la kinétine provoque une tubérisation plus précoce (Tableau 7). Elle agit comme l'ANA sur la tubérisation (TIZIO et BIAIN, 1973 ; FORSLINE et LANGILLE 1976 ; TIZIO, 1979). Cette substance n'est pas absolument nécessaire pour la formation du tubercule (TIZIO et BIAIN, 1973), on obtient la tubérisation in vitro sans kinétine ajoutée au milieu de culture chez le témoin. Les cytokinines endogènes sont probablement suffisantes pour induire la tubérisation (FORSLINE et LANGILLE, 1976). Nous avons constaté un antagonisme entre l'action de la solanine et de la kinétine.

On a démontré que l'acide gibbèrellique retarde la tubérisation et que ce retard est en rapport avec la concentration employée (TIZIO 1964 c, d). Selon RACCA et TIZIO (1968), plusieurs gibbèrellines sont produites pendant le cycle végétatif ; leur taux diminue au cours de la tubérisation. Nos résultats confirment l'action retardatrice de l'acide gibbèrellique sur la tubérisation des fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. Il n'apparaît aucun antagonisme entre l'action de la solanine et celle de l'AG<sub>3</sub>. Ces deux substances en association provoquent des phénomènes identiques quelles que soient les concentrations utilisées. Mais on peut penser que ces deux substances agissent par des voies métaboliques différentes.

Le CCC accélère la tubérisation en inhibant la synthèse des gibbèrellines endogènes (TIZIO, 1969, 1979). Ayant constaté à plusieurs reprises l'action retardatrice exercée par la solanine sur la tubérisation et son inhibition sur les systèmes racinaire et stolonifère des fragments de germes de Pomme de Terre, d'une part, et l'absence d'antagonisme avec l'action de l'AG<sub>3</sub> d'autre part, nous avons entrepris des études associant la solanine au CCC. Les résultats

montrent que le CCC employé seul dans le milieu de culture provoque une précocité de la tubérisation. Ces résultats confirment ceux de TIZIO (1969, 1979). De STECCO et TIZIO en 1982, estiment que le CCC provoque une modification du métabolisme glucidique qui stimule la croissance du tubercules. Toutefois, nous avons observé qu'en combinaison avec une faible dose de solanine, le CCC pourrait avancer la tubérisation mais à forte dose de solanine, cet effet est inversé.

On observe qu'en absence de solanine (témoin), la température favorise la tubérisation jusqu'à 20°C puis on remarque une inhibition partielle, et à 30°C l'inhibition est complète. A basse température (10°C), la solanine employée à forte dose ( $5 \cdot 10^{-6} \text{M}$ ) exerce une action retardatrice sur la tubérisation. On constate que la tubérisation est accélérée en présence de solanine à 15°C, quelle que soit la concentration employée. Il est difficile de savoir si cela correspond à une action de la solanine ou à une éventuelle différence de perméabilité, parce qu'à une température de 20°C, ou supérieure, la solanine retarde la tubérisation. SALUNKHE et al. (1972) ont constaté la présence de solanine dans des fragments de tubercule cultivés à une basse température (0 à 8°C) et une augmentation importante de ce composé à température plus élevée (15 à 20°C).

Il est intéressant de noter que GREGORY (1956) a signalé qu'il existe un facteur spécifique de la tubérisation synthétisé à une température déterminée (20°C pendant la journée et 14°C la nuit) et à une photopériode courte (GREGORY, 1956 ; CHAPMAN, 1958).

La lumière joue également un rôle important sur le phénomène de tubérisation : un éclairage continu pendant la durée de l'expérience retarde la tubérisation, même chez les témoins sans solanine (Tableau 15). TIZIO (1979) pense que la lumière continue favorise la synthèse des gibbérel-

lines qui exercent une action retardatrice sur la tubérisation. Nous avons constaté qu'une plus grande durée d'éclairage retarde la tubérisation quelle que soit la dose de solanine employée. Mais le retard est d'autant plus faible que la dose de solanine est plus forte.

La synthèse de solanine endogène doit être régulée par des conditions de température et de lumière. Il serait particulièrement intéressant de comparer nos résultats en dosant les glycoalcaloïdes dans des plantes cultivées sous différentes conditions et en relation avec l'induction du phénomène de tubérisation.

#### IV. Rapport entre solanine et synthèse de chlorophylles et de caroténoïdes

Le développement de solanine dans des tubercules exposés aux U.V. est plus élevé, tandis que la formation de chlorophylle est insignifiante (CONNER 1937). GULL et ISENBERG (1960) ont également démontré que ces deux phénomènes sont indépendants. Nos résultats (Tableau 21) indiquent que le taux de chlorophylle augmente dans les tiges stolonifères apparues sur des fragments de germes cultivés in vitro à l'obscurité, dans un milieu renfermant de la solanine. RAMASWAMY et al. (1976) ont souligné que la synthèse de chlorophylle aurait lieu en présence de solanine dans des tubercules conservés au froid (0 à 4°C) en faible lumière (30-40 lux) pendant 6 à 8 semaines.

Nous constatons nous-mêmes dans ces expériences un rapport entre synthèse de chlorophylle et synthèse de solanine à l'obscurité compte tenu de notre système expérimental et d'après nos résultats, la solanine pourrait être inductrice de la synthèse de chlorophylle et de caroténoïdes. Elle pourrait fournir des produits de dégradation précurseurs de la chaîne phytol ou des chaînes tétraterpéniques de carotènes. Cette hypothèse nous paraît, cependant, peu vraisemblable, compte tenu du fait que l'on connaît peu de cas de rupture du noyau stérol ; seule la vitamine D procède d'un tel mécanisme biosynthétique.

## V. Migration et accumulation des glycoalcaloïdes

La solanine se trouve dans tous les organes de la plante (LAMPITT et al. 1943 ; WOLF et DUGGAR, 1946) mais la quantité diminue dans les parties âgées ( WOLF et DUGGAR, 1946). Selon PROKOSHEV et al. (1952) elle est synthétisée dans les feuilles. Nos résultats confirment ceux obtenus par d'autres auteurs (LAMPITT et al. 1943 ; WOLF et DUGGAR, 1946) ; la concentration de solanine est plus élevée dans les germes (Tableau 20), ensuite dans les feuilles (Tableau 19), puis dans les tubercules (Tableau 20). On peut constater que la teneur en solanine est légèrement plus élevée dans les tubercules-mères au moment de la plantation que dans les tubercules fraîchement récoltés. Les tubercules immatures contiennent une quantité élevée de solanine. D'après VERBIST et MONNET (1979) la teneur en solanine est souvent beaucoup plus élevée dans des tubercules petits et immatures.

On observe que les tubercules formés in vitro contiennent de la solanine dont la quantité est élevée dans toutes les conditions. Ces tubercules ont une taille de 5 mm environ.

Dans les tubercules récoltés en conditions naturelles, la solanine est plus concentrée au niveau du parenchyme cortical et en particulier au niveau du périderme, (WOLF et DUGGAR, 1946). Il est évident que, plus les tubercules sont petits, plus la proportion de la zone de formation de la solanine est grande. C'est vraisemblablement une des raisons pour laquelle la teneur en solanine est si élevée dans les tubercules formés in vitro. Cependant, la teneur en solanine des tubercules formés augmente avec la concentration en solanine utilisée dans le milieu, et est très supérieure à celle des témoins. Quand on emploie l'ANA et l'AG<sub>3</sub>, la teneur en solanine diminue au contraire dans les tubercules formés. Les tubercules développés en présence

de kinétine sont les plus riches en solanine. Nous constatons aussi que, plus la température est élevée, plus la quantité en solanine augmente dans des tubercules formés in vitro.

Ces résultats suggèrent que l'élaboration et la migration de la solanine sont soumises à une régulation probablement complexe, dont nous ne mettons en évidence que quelques facteurs. Les glycoalcaloïdes peuvent migrer dans la plante et s'accumuler dans certains organes ou certaines parties d'organes. Une auxine ou l'AG<sub>3</sub> diminuent leur élaboration, peut-être en favorisant d'autres synthèses alors qu'une cytokinine stimule leur formation. D'autre part, une température élevée (de l'ordre de 30°C) stimule également cette biosynthèse. Nous voyons que la biosynthèse des glycoalcaloïdes de la Pomme de Terre s'inscrit dans un ensemble de mécanismes régulateurs où les substances de croissance interviennent de manière directe ou indirecte. Ces observations ouvrent la voie à de nombreuses recherches.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats que nous avons présentés suggèrent que la solanine pourrait intervenir dans le phénomène de tubérisation par l'effet retardant qu'elle exerce sur ce phénomène et en inhibant le développement du système racinaire en modifiant les stolons et en provoquant le développement des feuilles et en stimulant les synthèses de chlorophylle et de caroténoïdes. Elle antagonise les effets de l'ANA et de la kinétine sur la précocité de tubérisation et, en même temps, exerce un effet inhibiteur sur le système racinaire. Les effets de la solanine et de l'AG<sub>3</sub> présentent quelques similitudes sur le phénomène de la tubérisation et sur le développement du système racinaire. L'effet retardant de la solanine est net, même en présence du CCC, qui bloquerait la synthèse des gibbérélines endogènes notamment de l'AG<sub>3</sub> ; le CCC provoquerait aussi une tubérisation plus précoce et inhiberait le système racinaire. L'effet de la solanine est plus important à la température de 20°C. La lumière qui, on le sait, favorise la synthèse des gibbérélines et retarde la tubérisation, interfère également avec l'action retardatrice de la solanine.

La chaconine, autre glycoalcaloïde de la Pomme de Terre agit de la même façon que la solanine sur les fragments de germes ou de tiges de Pomme de Terre cultivés in vitro. Mais il reste à déterminer si les interactions de cette substance avec d'autres régulateurs de croissance, dans diverses conditions de photopériode et de thermopériode sont semblables à celles observées avec la solanine.

La solanine se trouve dans tous les organes de la Pomme de Terre ; elle est synthétisée particulièrement dans les feuilles, peut-être sous l'effet de facteurs tels que la lumière et la température. Dès qu'il y a apparition des germes sur le tubercule, la solanine endogène y est

mobilisée et peut-être aussi synthétisée à partir des sucres libérés, quand les organes aériens deviennent âgés, elle est dégradée ou transportée dans les tubercules.

Une augmentation de la teneur en solanine dans des tubercules formés en présence de solanine exogène, indique la possibilité de migration et d'accumulation de cette substance dans les tubercules.

Nous estimons que ces glycoalcaloïdes, en raison de leurs effets retardants sur le phénomène de tubérisation et inhibiteur sur le développement des racines et des stolons, même à faible concentration, du fait de leur synthèse dans les feuilles ainsi que les possibilités de migration et d'accumulation dans les tubercules et enfin à cause de leur interaction avec d'autres substances de croissance, pourraient être considérés comme des facteurs modulant les grands régulateurs de croissance chez la Pomme de Terre.

Dans le mécanisme de leur biosynthèse, l'acétate et le mévalonate sont des précurseurs de la solanine. La synthèse de la molécule solanidine, aglycone, à partir de squalène (triterpène) reste encore à préciser. Or, les diterpènes et leurs dérivés, y compris le phytol qui, estérifié, conduit à la molécule de chlorophylle sont des molécules proches de la solanidine du point de vue biosynthèse. On pourrait penser que la dégradation de la solanine fournirait un précurseur pour l'élaboration du phytol, étape nécessaire à la synthèse de chlorophylle.

De nombreuses recherches seront nécessaires pour préciser ces points. En particulier, il serait intéressant d'étudier l'importance de la source carbonée du milieu de culture en relation avec la synthèse des glycoalcaloïdes, de même que les migrations de ces produits. Enfin, le rapport entre chlorophylle et solanidine doit être approfondi.

## B I B L I O G R A P H I E

BAKER.L.C., LAMPITT.L.H., MEREDITH.O.B. 1955 - Solanine, glycoalkaloids of the potato. III. Improved method of extraction and determination. J. Sci. Food Agr. 6, 197-202.

BLANC.A., 1973 - Nouvelles recherches sur les effets de basses températures sur la tubérisation des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. C. R. Acad. Sc. 277 Série D, 773-775.

BARKER.W.G., 1953 - A method for the in vitro culturing of potato tubers. Science. 118, 384

BAUP.M., 1826 - Ann. Chem. Phys. 31. 108 cité par SHIH.M.J. and KUC.J. 1974 -  $\alpha$  and  $\beta$ - Solamarine in Kennebec Solanum tuberosum leaves and aged tuber slices. Phytochem., 13, 997-1000.

BOLL.P.M. and ANDERSEN. B., 1962 - Alkaloidal Glycosides from Solanum dulcamara III. Differentiation of geographical strains by means of Thin Layer Chromatography. Planta Med. 70, 421-432.

BOMER.A. and MATTIS.H., 1924 - Der Solaniningehalt der Kartoffeln. Ztschr. f. Untersuch. der Nahr u. Genussmtl., 47, 97-127.

BUSHWAY, R.J., BARDEN.E.S., BUSHWAY.A.W. and BUSHWAY.A.A. 1980 - The mass extraction of potato glycoalkaloids from blossom. Amer. Potato J., 57, 175-370.

CHAPMAN, H.W., 1954 - A tissue culture method of studying the potato plant. Amer. Potato J., 31, 367-370.

CHAPMAN, H.W. 1955 - Potato tissue cultures. Amer. Potato J. 32, 207-210.

CHAPMAN, H.W. 1958 - Tuberization in the potato plant. Physiol. Planta. 11, 215-224.

CONNER, H.W. 1937 - Effect of light on solanine synthesis in the potato tuber. *Plant Physiol.* 12, 79-98.

DABBS, D.H. and HILTON, R.J. 1953 - Method of analysis for solanine in tubers of Solanum tuberosum. *Can. J. Technol.* 31, 213-220.

DE BOTINI, G.A., GOLENIOWSKI, M. and TIZIO, R., 1981 - Effect of (2-Chloroethyl) trimethyl ammonium chloride upon gibberellin levels in potato plants (Solanum tuberosum L.) and influence of these phytohormones on tuberization in vitro. *Z. Pflanzen Physiol. Bd.* 103 S, 149-155.

DeSTECCO, V.L. et TIZIO, R. 1982 - Action du C.C.C. sur la tubérisation des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro dans un milieu minéral dépourvu de sucre. *C.R. Acad. Sci. Fr.* 294 série III ; 901-904.

DIMALLA, G.G. ; VANSTADEN, J. and SMITH, A.R. 1977- A comparison of the endogenous hormone levels in stolons and sprouts of the potato, Solanum tuberosum. *Physiol. Plant.* 41, 167-171.

FITZPATRICK, T.J. and OSMAN, S.F. 1974- A comprehensive method for the determination of total potato glycoalkaloids. *Amer. Potato J.* 51, n° 10, 318-323.

FORSLINE, P.L. and LANGILLE, A.R., 1976 - An assessment of the modifying effect of kinetin on in vitro tuberization of induced and non induced tissues of Solanum tuberosum. *Can. J. Bot.* , 54 , 2513- 2516.

GARCIA-TORRES, L and GOMEZ-CAMPO, C., 1971 - Increased tuberization in potatoes by ethrel. *An. INIA/Ser.* : *Prod. Veg/ N I*, 197-198.

GARCIA-TORRES, L and GOMEZ-CAMPO, C. 1972 - Increased tuberization in potatoes by ethrel (2 - Chloro ethyl phosphonic acid). *Potato Res.* 15, 76-80

GAUTHERET, R.J. 1959 - La culture des tissus végétaux, Masson et Cie, Paris.

GREGORY, L.E. , 1956 - Some factors for tuberization in the potato plant. Amer. J. Bot, 43, 281-288.

GULL, D.D. and ISENBERG F.M., 1960 - Chlorophyll and solanine content and distribution in four varieties of potato tubers. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci, 75, 545-556.

GUSEVA, A.R. and PASESHNICHENKO, V.A. , 1958 -  
A study of the biogenesis of potato glycoalkaloids by the method of labeled atoms. Biokhimiya , 23, 358-388.

GUSEVA, A.R. ; PASESHNICHENKO, V.A. and BORIKHINA, M.G., 1961 -  
Synthesis of radioactive mevalonic acid and its use in the study of the biosynthesis of steroid glycoalkaloids from Solanum.  
Biokhimiya 26 , 631-635.

HAMMES, P.S., 1971 - Tuber initiation in the potato (Solanum tuberosum L.) "Agroplantae" 3 , 73-74.

HASSALL, K.A., 1969 - World crop protection. Vol. 2 Pesticides,  
Chemical rubber Co. Cleaveland and Heffe Booke Ltd. London, I28-  
I38 P

HEFTMANN, E and MOSETTING, E., 1960 - Biochemistry of steroids,  
Van Nostrand, Reinhold, Princeton, New Jersey.

HEFTMANN, E., 1963 - Biochemistry of Plant steroid. Ann. Rev.  
Plant Physiol. I4 , 225-248.

HOLM, G., 1954 - Chlorophyll mutations in barley. Acta Agric. Scand.  
4 , 457-471.

HUNTER, I.R. WALDEN, M.K. WAGNER, J.R. and HEFTMANN, E, 1976 -  
High-Pressure Liquid Chromatography of steroidal alkaloids. J.  
Chromatogr. II9 , 223-226.

JADHAV, S.J. and SALUNKHE, D.K., 1973 - Enzymatic glycosylation of solanidine. J. Food Sci. 38 , 1099 - 110.

JADHAV S.J., SALUNKHE. D.K, WYSE, R.E. , DALVI, R.R., 1973 - Solanum alkaloids : Biosynthesis and inhibition by chemicals. J. Food Sci. 38 ; 453-455.

JADHAV, S.J. and SALUNKHE, D.K., 1975 - Formation and control of chlorophyll and glycoalkaloids in tubers of Solanum tuberosum L. and evaluation of glycoalkaloid toxicity. Adv. Food Res. 21, 308-354. Academic Press N.Y.

JADHAV S.J., Wu, MT. and SALUNKHE D.K., 1980 - Glycoalkaloids of hollow heart and black heart potato tubers. Hort. Sci 15 (2) , 147-148.

KODA Y. and OKAZAWA Y., 1977 - Cytokinins in growing potato tubers. Jap. J. Crop Sci. 46 , 492-498.

KRAUSS V.A. and MARSCHNER H., 1976 - Influence of nitrogen nutrition and application of growth regulators on tuber initiation in potato. Plants.Z. Pflanzenern Bodenk 2 , 143-155.

KUHN, R and LÖW-I, 1954 - Die Konstitution des solanins. Anger Chem. 66 , 639-640.

LAMPITT. L.H. BUSHILL J.H., ROOKE, H.S. and JACKSON, E.M., 1943 - Solanine glycoalkaloids of potato .II. Its distribution in the potato plant. Soc. Chem. Indus. J. 62, 48-51.

LANCASTER J.E., MANN J.D. and BLYTH, K.E., 1977 - Effect of age on amount and type of glycoalkaloids in leaves and roots of Solanum laciniatum Ait. N.Z. J. Agri .Res. 20, 395-399.

LAVINTMAN, N., TANDE CARZ, J and CARDINI C.E., 1977 - Enzymatic glycosylation of steroid alkaloids in potato tuber. Plant Sci. Lett. 8 , 65-70.

LILJEGREN, D.R., 1971 - Glycosylation of solasodine by extracts from Solanum laciniatum. Phytochem. 10 . 3061-3064.

LINGAPPA, Y., 1957 - Tissue cultures of Solanum tuberosum and Ipomoea pandurata. Amer. J. Bot., 44, 419-423.

MADEC.P., 1963 - Tuber forming substances in the potato. in "The Growth of the Potato". Proceeding of the Tenth Easter School in Agricultural Science. University of Nottingham. ed. J.D. Ivins, F.L. Milthorpe. London, Butterworths.

MANANT, M.P, 1975 - Action du glucose traité par le rayonnement gamma du cobalt et de certains produits de sa radio-lyse sur le développement de tissus de Topinambour et de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. C.R. Acad. Sc. 281 série D, 71-74.

MES, M.G. and MENGE, I, 1954- Potato shoot and tuber cultures in vitro. Physiol. Plant. 7, 637-649.

MINGO-CASTEL, A.M., YOUNG, R.E. and SMITH, O.E, 1976 - Kinetin-induced tuberization of potato in vitro, mode of action of kinetin. Plant and Cell Physiol. 17, 557-570.

OKAZAWA, Y., 1959- Studies on the occurrence of natural gibberellin and its effect on the tuber formation of potato plants. Proc. Crop Sci. Soc. Japan, 28, 129-133.

OKAZAWA, Y. and CHAPMAN H.W., 1962- Regulation of tuber formation in the potato plant. Physiol. Plant. 15 : 413-419.

OKAZAWA.Y., 1967 - Physiological studies on the tuberization of potato plants. J. Fac. Agric. Hokkaido Univ. Sapporo. Japan. 55, 267-336.

OKAZAWA. Y., 1969- Occurrence of natural cytokinins in potato tuber. Proc. Crop Sci Soc Japan. 38, 25-30.

OKAZAWA, Y., 1970- Physiological significance of endogenous cytokinins occured in potato tubers during their developmental period. Proc. Crop Sci. Soc. Japan XXXIX (2). 171-176.

OSMAN.S.F., HERB.S.F., FITZPATRICK.T.J. and SCHMIEDICHE.P., 1978 - Glycoalkaloid composition of wild and cultivated tuber bearing Solanum species of potential value in potato breeding programmes. J. Agri. Foodchem., 26 n° 5, 1246-1248.

PALMER, C.E. and SMITH, OE., 1969- Cytokinins and tuber induction in the potato plant. Nature. 221 , 279- 280.

PAQUIN, R et LEPAGE, M., 1963- Séparation de la solanine, et de la chaconine et de la solanidine par chromatographie sur couches minces, J. Chromatog. 12 , 57-62.

PARROT, F., 1973- Interaction de l'acide naphtalène acétique et des sels minéraux sur la croissance et la tubérisation de fragments de tiges de Pomme de Terre cultivés in vitro. C.R. Acad. Sci. 277 série D, 781-784

PASESHNICHENKO, V.A. and GUSEVA, A.R., 1956- Quantitative determination of potato glycoalkaloids and their preparative separation. Biochemistry (USSR). (Eng. Trans.) 21, 606-611.

PATIL, B.C. SALUNKHE, D.K. and SINGH, B, 1971- Metabolism of solanine and chlorophyll in potato tubers as affected by light and specific chemicals. J. Food Sci. 36, 474-476.

PATCHETT, B.J., 1977- Glycoalkaloid levels in New Zealand Potatoes. N.Z. J. Exptal. Agr. 5, 55-57.

PAUPARDIN, C. et TIZIO, R, 1969a - Action de quelques composés phénoliques sur la tubérisation de germes de pomme de Terre cultivés in vitro C.R. Acad. Sci. 269 série D, 1077-1080.

PAUPARDIN, C et TIZIO, R.; 1969b - Sur la présence de composés phénoliques dans des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro, comparaison avec les composés phénoliques présents dans la plante entière. C.R. Acad. Sci. 269 série D, 1668-1670.

PAUPARDIN C, et TIZIO R, 1970 - Action de quelques composés phénoliques sur la tubérisation de la Pomme de Terre. Potato Res. 13. 187-198.

PAUPARDIN, C 1972- Contribution à l'étude du rôle des composés phénoliques dans les phénomènes de morphogenèse manifestés par quelques tissus végétaux. Ann. Sci. Nat. Botanique. Paris. XIII, 141-210.

PFANKUCH, E, 1937- Die Photometrische Bestimmung von Solanine. Biochem. Ztscher, 295, 44 - 47

PROKOSHEV, S.M., PETROCHENKO, E.I, Il'in, G.S. BARANOVA, V.Z. and LEBEDEVA, N.A. 1952- Glycoalkaloids in leaves and tubers of vegetatively grafted nightshade plants. Doklady Akad. Nauk SSSR. 83 , 881-884- Chem. Abstr. 46, 8201 (1952).

RACCA, R.W. and TIZIO, R., 1968- A preliminary study of changes in the content of gibberellin - like substances in the potato plant in relation to the tuberization mechanism. Eur. Potato J. II. 213-220.

RAMASWAMY, N.K. BEHERE, A.G. and NAIR, P.M. 1976 - A novel pathway for the synthesis of solanine in the isolated chloroplast from greening potatoes. Eur. J. Biochem. 67 275-282.

RAMSHORN, K. 1955. In "Alkaloid biology and metabolism in plants". ed. WALLER, G.R. and NOWACKI, E.K. plenum Press 157 P

REUST, W., 1976- L'effet du C.C.C. sur la tubérisation de la Pomme de Terre. Rev. Suisse Agric. 8 (3), 61-65.

SALUNKHE, D.K. , Wu, M.T. and JADHAV, S.J., 1972 - Effects of light and temperature on the formation of solanine in potato slices. J. Food Sci 37 , 969- 970.

SANFORD, L.L. and SINDEN, S.L. 1972- Inheritance of potato-glycoalkaloids. Amer. Potato J. 49 n° 6, 209-217

SATTELMACHER, B. and MARSCHNER, H. 1978 - Cytokinin activity in stolons and tubers of Solanum tuberosum during the period of tuberization. Physiol. Plant. 44, 69-72.

SCHREIBER, K, 1968- Steroid alkaloids : Solanum group. In "The Alkaloids : chemistry and physiology" ed. R.H.F. Manske. 10 : I-192. Academie Press, New York.

SINDEN, S.L. and WEBB, R.E. 1972. Effect of variety and location on the glycoalkaloid content of potatoes. Amer. Potato J. 49, 334-338.

SINDEN, S.L., GOTH, RN, and O'BRIEN, M.J., 1972- Effect of potato alkaloids on the growth of Alternaria solani and their possible role as resistance factors in potatoes. Phytopath. 63, 303-307.

SINDEN, S.L. and WEBB, R.F. 1974- Effect of environment on glycoalkaloid content of six varieties at 39 locations. Agri . Res. Service USDA Tech. Bull- N° 1472 , I-30.

SMITH O.E. and PALMER, C.E. 1970- Cytokinin-induced tuber formation on stolons of Solanum tuberosum -Physiol. Plant. 23, 599-606.

TALUKDER, N.M. et PAUPARDIN, C., 1981- Action de la solanine sur la croissance et la tubérisation de fragments de germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. C.R. Acad. Sc. 293 série III, 549-552.

TIZIO, R., 1964a - Effet du système racinaire sur la tubérisation de la Pomme de Terre C.R. Acad. Sci. 258 6503-6506.

TIZIO, R., 1964b - Nouvelles recherches sur l'action qu'exerce le système racinaire sur la tubérisation de la Pomme de Terre. C.R. Acad. Sci. 259, 428-431.

TIZIO, R., 1964c - Action de l'acide gibbérellique sur la tubérisation de la Pomme de Terre. C.R. Acad. Sci. 259 II87-II90.

TIZIO, R., 1964d - Influence de l'acide gibbérellique et des racines sur la tubérisation et la formation de stolons chez la Pomme de Terre. C.R. Acad. Sci. 259, I439-I442.

TIZIO, R., 1964e - Remarques sur le mécanisme de la tubérisation de la Pomme de Terre. C.R. Acad. Sci. 259 II- 2001-2004.

TIZIO.R., 1966a - Effet d'extraits aqueux de feuilles de pieds de Pomme de Terre ayant produit des tubercules sur la tubérisation de fragments de germes cultivés in vitro C.R. Acad. Sc. 262, Série D : 362-365.

TIZIO.R., 1966b - Croissance anormale du système racinaire et tubérisation de la Pomme de Terre. C.R. Acad. Sci. 262, série D, 98-99.

TIZIO.R., 1966c - Interaction du facteur racinaire et de l'acide gibbérellique sur la croissance des stolons et la tubérisation. C.R. Acad. Sc. 262. Série D. 767-770;

TIZIO.R., 1966d - Présence de kinines dans le péricarde de tubercules de Pomme de Terre. C. R. Acad. Sci. 262

Série D 868

TIZIO, R., 1969- Action du CCC (chlorure de (2 chloroéthyl) triméthyl ammonium) sur la tubérisation de la Pomme de Terre Eur. Potato J. 12 , 3-7.

TIZIO, R and BIAIN, M.M., 1973- Are cytokinins the specific factors for tuber formation in the potato plants ?  
Phyton 31 (I), 3- 13V.

TIZIO, R., 1979- Contribution à l'étude du mécanisme hormonal de tubérisation de la Pomme de Terre (Solanum tuberosum L.) Thèse Doct. Etat Sci. Nat. Univ. P.M. Curie, Paris 6, I-109.

TIZIO, R., 1979a - Effet de la lumière sur la tubérisation in vitro de germes de tubercule de Pomme de Terre (Solanum tuberosum L.) d'âges physiologiques différents. C.R. Acad. Sci. 289 Série D, 275-277.

TIZIO, R. et TIZIO, C.R., 1981- Rôle du tubercule-mère dans la tubérisation de la plante de Pomme de Terre (Solanum tuberosum L. Variété Bintje). Phyton 40 (I), 49-59. III.

TIZIO, R. et TIZIO, C.R., 1981- Effet de températures de conservation sur le degré d'incubation du plant de Pomme de Terre (Solanum tuberosum L) et leur incidence sur la productivité. Phyton 40 (I) , 61-71 III.

TRIPATHI, B.D. , 1973 a - Action des sels minéraux sur la tubérisation de fragments de tiges de Pomme de Terre (Solanum tuberosum L. var. Bintje) cultivés in vitro. C.R. Acad. Sci. 277 , série D, 645-648.

TRIPATHI, B.K. , 1973b - Action de quelques ions minéraux sur la tubérisation des germes de Pomme de Terre cultivés in vitro. C.R. Acad. Sci. 277, série D, 1467-1469.

VERBIST, J.F. et MONNET, R. 1979- A propos de la teneur en solanine des petits tubercules nouveaux de Pomme de Terre (Solanum tuberosum L.). Potato Res. 22, 239-244.

WANG.S.L., BEDFORD.C.L. and THOMPSON.N.R., 1972 -  
Determination of glycoalkaloids in potatoes (S. tuberosum)  
with a bisolvent extraction. Amer. Potato J. 49, 302-308.

WHITE P.R. 1943- A handbook of plant tissue culture. The  
Jacques Cattell Press. Lancaster, Pennsylvania U.S.A.

WOLF, M.J. and DUGGAR, B.M., 1946- Estimation and physiolo-  
gical role of solanine in the potato. J. Agr. Res. 73,  
I-32.

ZITNAK, A., 1961 - The occurrence and distribution of free  
alkaloid solanine in netted Gem Potatoes. Can. J. Biochem.  
Physiol. 39 1257-1265.

ZITNAK. A and JOHNSTON, G.R. 1970 - Glycoalkaloid content  
of B 5141-6 Potatoes. Amer. Potato J. 47, 256-260.

