

SUR QUELQUES ASPECTS PHYSIOLOGIQUES ET
BIOCHIMIQUES DE LA TUBERISATION

(Upon tuberization : Some physiological and
Biochemical aspects)

C. MARTIN, M. PAYNOT et J. MARTIN-TANGUY
Station de Physiopathologie Végétale
INRA - DIJON

RESUME

Chez de nombreuses espèces végétales des organes de nature bien déterminée possèdent la propriété de tubériser. Après la mort de la plante, ces tubercules servent à la multiplication végétative de l'espèce. Ce mécanisme physiologique, comme la floraison, est reconnu dépendant de la photopériode, sensible aux hautes températures, induit par le feuillage et par greffe. Floraison et tubérisation doivent donc avoir des points communs biochimiques. Nous montrons que le feuillage de *Nicotiana sylvestris* (fleurissant en jours longs), greffé sur *Solanum* SDA (tubérisant en jours courts), induit la tubérisation du porte greffe, en jours longs. Le facteur de tubérisation est donc bien d'origine foliaire mais n'est spécifique ni de l'espèce ni même du genre végétal. Des travaux antérieurs, issues de nos laboratoires ont montré que la synthèse ou l'accumulation de phénolamides est étroitement liée à l'induction et l'expression florales. Il apparait ici que ces composés sont présents chez *Solanum* SDA en grande quantité, dans les feuilles sous jours longs (période de floraison), dans les stolons sous jours courts (période de tubérisation).

SUMMARY

In various plant species, different determined organs can tuberize. These tubers can be used in vegetative reproduction of the plant. This physiological mechanism (such as flowering) is dependant on photoperiodism, sensitive to high temperatures and induced by leaves and grafting. We show that leaves from *Nicotiana sylvestris* (flowering under long days) grafted on *Solanum* SDA (tuberizing under short days) induce tuberization on the stock under long days. So, tuberization factor is neither specific of a specie nor a genus but really comes from the

leaves. Previous works from our group show that synthesis or accumulation of phenolamides are tightly linked to flowering induction and expression. Further works demonstrate here that these substances are present in Solanum SDA , at high level in leaves under long days (flowering period), in runners under short days (Tuberizing period).

Chez de nombreuses espèces végétales, des organes de nature bien déterminée (racine, tige, feuille) possèdent la propriété, à un moment donné du cycle végétatif de la plante, d'accumuler dans leurs parenchymes primaires ou secondaires, des substances de réserve, généralement glucidiques. Le stockage de ces substances, accompagné d'une hypertrophie radiale de l'organe affecté, caractérise la tubérisation. Après la mort de la plante, ces organes tubérisés deviendront des organes de conservation puis, après une période de dormance plus ou moins longue, ils serviront à la multiplication de l'espèce. Leurs bourgeons donneront alors naissance à de nouvelles plantes qui utiliseront les réserves accumulées antérieurement pour assurer leur première phase de croissance.

Ce mécanisme physiologique a déjà fait l'objet de nombreuses observations et études qui ont abouti très souvent à des conclusions cohérentes mais quelquefois aussi à des résultats contradictoires. Ainsi :

1) Ce phénomène est très souvent dépendant de la photopériode (1 à 4).

2) les hautes températures inhibent la tubérisation (5 à 7) de même qu'elles inhibent l'induction et l'expression florales (8).

3) Le facteur inducteur de la tubérisation est formé ou activé dans le feuillage (4-9).

4) Ce facteur est transmissible par la greffe (10 à 12).

5) Enfin, pour certain ce facteur est spécifique de l'espèce tubéreuse (13-14) ; pour d'autres, il ne l'est pas (12).

Nos recherches en biochimie de la différenciation et plus spécifiquement de la floraison (15 à 22) nous ont conduits à imaginer les expériences relatées ci-après. Il existe en effet de nombreuses analogies entre floraison et tubérisation : dépendance photopériodique, sensibilité au facteur température, transmissibilité d'un stimulus par la greffe, aspects qualitatifs mais aussi quantitatifs des deux phénomènes.

L'hypothèse à l'origine de ces expériences est la suivante : les diverses manifestations photopériodiques telles que la tubérisation, l'entrée en dormance ou la floraison doivent avoir des points en commun.

EXPERIENCES DE GREFFAGE

Notre premier objectif était de tenter d'obtenir, par l'intermédiaire de la greffe, la tubérisation en dyspériode d'une espèce, grâce au feuillage d'une autre espèce incapable de tubériser, mais fleurissant sous des conditions photopériodiques inhibant la tubérisation de la première espèce ; la réussite d'une telle expérience plaiderait très favorablement pour, sinon l'identité, du moins une grande similitude entre facteur(s) de floraison et facteur(s) de tubérisation.

Nous avons choisi deux genres très différents : la Pomme de Terre et la Tabac.

Pomme de Terre : deux espèces ont été retenues :

SDA : hybride F1 entre *Solanum tuberosum* et *Solanum demissum*. Cet hybride présente la particularité de fleurir sans tubériser en jours longs (16 h) et de tubériser sans fleurir en jours courts (10 h).

Solanum tuberosum var. Bintje. La tubérisation de cette espèce est très peu sensible à la photopériode.

Tabac : deux espèces ont également été retenues :

Nicotiana sylvestris : qui fleurit en jours longs de 16 h mais reste en rosette végétative en jours courts de 10 h.

Nicotiana tabacum var. Xanthi n.c. qui est une plante dite de jours longs préférante ; elle fleurit abondamment en 16 h, plus tardivement et beaucoup moins abondamment en 10 h.

Dans une première expérience, préliminaire, on greffe en fente sur des boutures de Pomme de Terre SDA et Bintje enracinées depuis 30 jours, des sommets végétatifs de *N. sylvestris* et également des sommets de SDA ou de Bintje comme témoins (pour éliminer un éventuel effet du greffage).

Dans la deuxième expérience, sur des boutures de Pomme de Terre SDA enracinées depuis 30 jours, on greffe des sommets végétatifs des deux espèces de *Nicotiana* et également des sommets de SDA qui servent de témoins.

Lorsque la soudure est réalisée, c'est-à-dire 12 jours après la greffe, on supprime toutes les feuilles des porte-greffes SDA ou Bintje et on sépare chacune des combi-

naisons en deux lots : l'un est placé en jours courts (10 h), l'autre en jours longs (16 h). On laisse les greffons de Tabacs ou de Pomme de terre se développer mais on veille attentivement à supprimer tout développement végétatif de l'espèce porte-greffe capable de tubériser. Les plantes sont élevées en salles climatisées (température 20 C 1 ; lumière 150 W.m , hygrométrie 70 pour cent).

La première expérience, préliminaire, comportait 8 à 12 combinaisons par lot. La seconde, réalisée uniquement avec SDA , comportait 20 combinaisons par lot. Les résultats ont été notés 120 jours après le greffage.

TABLEAU 1 : 1ère expérience, janvier à mai 1982

Greffon/ Porte-greffe	N. sylvestris/ SDA ₆	N. sylvestris/ Bintje	SDA ₆ / SDA ₆	Bintje/ Bintje
Jours longs (16 h)	+	+	+	+
Jours courts (10 h)	-	-	+	+

+, tubérisation ; -, absence de tubérisation.

TABLEAU 2 : 2e expérience, mai à septembre 1982

Greffon/porte-greffe	N. sylvestris/ SDA ₆	N. xanthi/ SDA ₆	SDA ₆ / SDA ₆
Nombre de tubercules sur 20 plantes			
en :			
Jours longs (16 h)	110 (5,5 par plante)	357 (17,8 par plante)	0
Jours courts (10 h)	0	3 (sur 3 plantes différentes)	210 (10,5 per plante)

Il faut compléter ces résultats de la deuxième expérience par les observations suivantes :

- quand il y a tubérisation, elle commence vers le 45e jour après la greffe ;

- les greffons de *N. sylvestris* ont fleuri en jours longs et non en jours courts ; ceux de *N. xanthi* ont fleuri dans les deux conditions mais avec les différences quantitatives ci-dessus évoquées.

Ces résultats conduisent aux conclusions et discussions suivantes :

1) Comme l'avait montré J.P. NITSCH dès 1966 (12), le stimulus conduisant à la tubérisation n'est pas spécifique mais nos résultats sont encore plus significatifs que ceux de cet auteur qui avait choisi deux espèces d'un même genre, l'Hélianthus, alors que nous avons combiné, par l'intermédiaire de la greffe, des espèces de genres très éloignés, le *Solanum* et le *Nicotiana*.

2) La tubérisation (de même que la floraison) est un phénomène quantitatif comme l'avaient démontré MADEC et PERENNEC (13) ; les chiffres du tableau ? ci-dessus le témoignent.

3) Si le stimulus est de nature photopériodique, comme le conclut NITSCH (12), il peut cependant être déclenché, chez l'espèce capable de tubériser, par le matériel foliaire d'une espèce incapable de tubériser, soumis à des conditions photopériodiques qui ne permettent pas la production de tubercules par l'espèce tubéreuse. Là, si nos résultats ne sont pas contradictoires avec ceux de NITSCH, ils autorisent incontestablement à émettre des hypothèses plus audacieuses : grâce à des hétérogreffes NITSCH avait en effet obtenu la tubérisation en jours courts ; il n'avait pas obtenu de tubercules en jours longs.

Nous avons personnellement, avec un autre système biologique, obtenu la tubérisation en jours longs d'une espèce ne tubérisant qu'en jours courts et surtout nous n'avons pas obtenu de tubercules en jours courts (avec le *N. sylvestris* comme matériel foliaire).

On peut donc obtenir la dérégulation de gènes spécifiques d'espèces capables de tubériser dans les conditions photopériodiques incompatibles avec la tubérisation, grâce à du matériel foliaire d'une espèce et même d'un genre très éloigné incapable de tubériser.

Signalons que Chailakyan (23) a obtenu des résultats voisins avec d'autres variétés de Tabac et de Pomme de terre.

ETUDE DE QUELQUES ASPECTS BIOCHIMIQUES

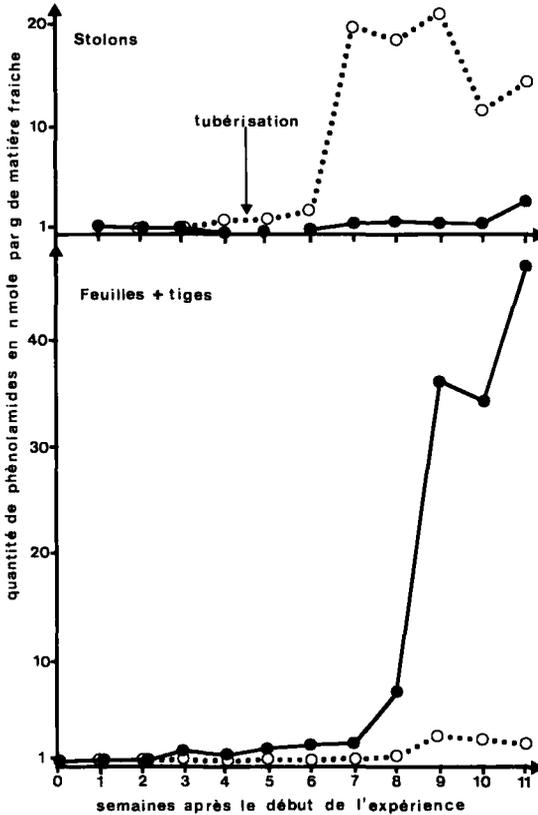
Nos recherches sur la biochimie de la floraison (15 à 22) ont révélé que la synthèse d'une nouvelle classe de molécules, les phénolamides, était étroitement liée à l'induction florale, c'est à dire aux mécanismes qui conduisent à la reproduction sexuée. Les phénolamides résultent de l'union par une liaison amide, d'un acide phénol et d'une amine ou d'une polyamine. Nous avons montré par ailleurs que ces molécules intervenaient en synergie avec les auxines et les cytokinines sur la multiplication et la différenciation cellulaire *in vitro* (24). Il était donc tentant d'étudier leur métabolisme en fonction de la tubérisation. En voici le résumé.

Des boutures apicales comprenant 4 à 5 feuilles sont prélevées sur des plants de SDA âgés de 3 semaines et cultivés en jours longs de 18 h. Elles sont mises à enraciner dans de la vermiculite humide arrosée régulièrement par une solution minérale nutritive. Dès que les racines commencent à apparaître, on ne laisse subsister que la plus jeune feuille insérée le plus près du bourgeon apical et le bourgeon situé à la base de la bouture. Toute les autres feuilles, les bourgeons qui se trouvent à leur aisselle et le bourgeon terminal sont supprimés. Chaque bouture est alors réduite à une très jeune feuille en voie de développement d'une surface foliaire de 2 à 3 cm² et d'un bourgeon enterré dont le stolon qui en proviendra sera placé dans un manchon de toile noire afin que toute sa croissance et son développement s'effectuent à l'obscurité. Ces boutures sont alors divisées en deux lots. L'un est placé en jours courts de 10 h, l'autre en jours longs de 16 h. Dès ce moment, toutes les semaines, les feuilles et les stolons tubérisés ou non de trois boutures par lot sont prélevés et leur teneur en phénolamides déterminée (25).

Dans les feuilles et les tiges des boutures cultivées en jours longs de 18 h, la présence de la férulyputrescine, la caféylputrescine et la para-coumarylputrescine a été observée. Ces trois substances se retrouvent aussi dans les stolons des boutures soumises à des jours courts de 12 h 30 avec en plus des traces de caféylspermidine.

L'évolution dans le temps de la teneur totale en phénolamides des stolons, des feuilles et des tiges est représentée par le graphique ci-contre.

Durant les 5 premières semaines suivant la mise en place de l'expérience, où la feuille réalise pratiquement toute sa croissance pour atteindre sa grandeur définitive avec une surface foliaire de l'ordre de 190 à 210 cm², la teneur totale en phénolamides reste faible dans les deux types d'organes prélevés quelle que soit la photopériode. C'est par la suite que, selon les conditions d'éclairement, vont apparaître de fortes différences.



Evolution de la teneur en phénolamides des stolons et des feuilles en fonction du temps et de la photopériode
 Jours longs ●—● Jours courts ○...○

En jours courts, la teneur des phénolamides dans les stolons, faible au début de l'expérience, augmente rapidement. Cette augmentation se réalise au moment où les stolons, après une croissance d'une durée assez courte, arrêtent leur élongation pour différencier à leur extrémité un tubercule. Par contre, au niveau des feuilles, la teneur en phénolamides demeure très faible et stable.

En jours longs, la situation est différente. La quantité de phénolamides présente dans les feuilles augmente rapidement et très fortement, tandis qu'au niveau des stolons qui poursuivent leur élongation sans jamais tubériser jusqu'à la fin de l'expérience, elle demeure très faible. En fin d'expérience, les deux types de boutures se distinguent principalement par la longueur des stolons. En jours longs, les stolons sont très longs, non tubérisés, à croissance orthotrope ; en jours courts, ils sont courts, à croissance plagiotrope et portent un ou plusieurs tubercules.

DISCUSSION

Nous avons montré antérieurement que la synthèse ou l'accumulation de phénolamides était étroitement liée à l'induction et l'expression florales. Ils sont synthétisés dès l'induction florale et s'accumulent presque exclusivement dans les organes reproducteurs (ovaires et anthères). Mais ces molécules diffèrent qualitativement et quantitativement selon les familles, les genres et même les espèces (19). C'est l'analogie entre le métabolisme des phénolamides du Tabac et de la Pomme de terre qui nous a conduits à réaliser les premières expériences de greffes relatées ci-dessus puis à analyser leur métabolisme en fonction de la tubérisation.

La réponse photopériodique du clone de Pomme de terre SDA, suant à sa tubérisation, conduit à deux distributions différentes de ces composés. En effet, l'accumulation de phénolamides s'observe au niveau d'organes différents selon que la feuille perçoit un induction de jours courts, ou de jours longs. Dans le premier cas, elle se fait au niveau des stolons quand ceux-ci tubérisent et dans le deuxième cas au niveau des feuilles alors que les stolons poursuivent leur élongation sans tubériser. TIZIO et PAUPARDIN (25-26) ont montré que certains acides phénols accélèrent et amplifient la tubérisation de la Pomme de terre cultivée in vitro. Ces molécules n'existent pas à l'état libre chez les végétaux, mais nous avons montré que les acides caféique et ferulique fournis à des fragments de limbe de Tabac cultivés in vitro étaient rapidement (48 à 72 h) transformés en phénolamides correspondants (résultats non publiés).

Si le clone SDA exige pour tubériser que son feuillage soit exposé à des jours courts alors que les jours longs sont favorables à sa floraison, les expériences relatées ici montrent qu'il est possible d'obtenir sa tubérisation en jours longs (16 h) par le simple greffage d'un feuillage d'une espèce incapable de tubériser, le *Nicotiana sylvestris*, mais fleurissant en jours longs. Par contre, chez ces hétéro-greffes, on n'obtient pas de tubercules en jours courts et le greffon ne fleurit pas et n'accumule pas de phénolamides.

Nos expériences révèlent donc que deux manifestations physiologiques photopériodiquement dépendantes, a priori aussi différentes que la tubérisation et la floraison, présentent en commun la biosynthèse de phénolamides et leur accumulation dans les organes correspondants. Mais elles posent un certain nombre de problèmes :

1) Quel est le rôle exact joué par de telles substances dans l'organogenèse des végétaux, en combinaison avec d'autres systèmes hormonaux (cytokinines et gibbérellines en particulier) ?

2) quelle est l'incidence de la photopériode sur leur site de synthèse et sur leur migration ?

En résumé, pourquoi les organes reproducteurs sexuels et les tubercules sont-ils des puits à phénolamides durant leur formation ?

BIBLIOGRAPHIE

- W.W. GARNER et H.A. ALLARD.- J. Agric. Res. 23, 1923, p. 871.
- M.A. TINCKER.- Ann. Bot., 39, 1925, p. 721.
- V. RASUMOV.- Bull. Appl. Bot., 27, 1931, p. 249.
- K.C. HAMNER et E.M. LONG.- Bot. Gaz, 101, 1939, p. 81.
- J. BUSHNELL.- Proc. Amer. Soc. Hortic. Sc., 20, 1923, p. 307.
- J.M. ARTHUR, J.D. GUTHRIE et J.M. NEWELL.- Amer. J. Bot., 17, 1930, p. 416.
- F.W. WENT.- Amer. J. Bot., 46, 1959, p. 277.
- C. MARTIN et M. GALLET.- Comptes Rendus, 262, séries D, 1966, p. 997.
- J.C. COURDUROUX.- Ann. Sc. Nat. Bot., 8, 1967, p. 215.
- L. DANIEL.- Comptes Rendus, 177, 1923, p. 1449.
- L.E. GREGORY.- Amer. J. Bot., 43, 1956, p. 281.
- J.P. NITSCH.- Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég., 12, 1966, p. 233.
- P. MADEC et P. PERENNEC.- Europ. Potato. J. 2, 1959, p. 22.
- U. OKAZAWA et H.W. CHAPMAN.- Physiol. Plant, 16, 1963, p. 623.
- J. MARTIN-TANGUY, C. MARTIN et M. GALLET.- Comptes Rendus, 276, série D, 1973, p. 1433.
- F. CABANNE, J. MARTIN-TANGUY, E. PERDRIZET, J.C. VALLEE, L. GRENET, J. PREVOST et C. MARTIN.- Comptes Rendus, 282, série D., 1976, p. 1959.
- J. MARTIN-TANGUY, C. MARTIN, M. GALLET et R. VERNROY, Comptes Rendus, 282, série D, 1976, p. 2231.
- F. CABANNE, J. MARTIN-TANGUY et C. MARTIN.- Physiol. Vég., 15, 1977, p. 429.
- J. MARTIN-TANGUY, F. CABANNE, E. PERDRIZET et C. MARTIN.- Phytochemistry, 17, 1978, p. 1927.
- C. MARTIN et J. MARTIN-TANGUY.- Comptes Rendus, 293, série D, 1981, p. 249.

- F. CABANNE, M.A. DALEBROUX, J. MARTIN-TANGUY et C. MARTIN.-
Physiologia Plantarum, 53, 1981, p. 399.
- Y. JASSEY, Thèse de 3ème cycle, Université de Dijon, 26 juin
1980.
- M.KH. CHAILAKYAN, L.I. YANINA, A.G. DEVEDZHYAN et G.N. LOTOVA.-
Doklady Akademii Nauk S.S.S.R., 257, 1981, p. 1276.
- C. MARTIN, G. KUNESCH, J. MARTIN-TANGUY, J. NEGREL, M. PAYNOT
et M. CARRE.- Plant Cell Reports, 1985 (sous presse)
- C. PAUPARDIN et R. TIZIO.- Potato Res., 13, 1970, p. 187.
- R. TIZIO et C. PAUPARDIN.- Colloques Internationaux, C.N.R.S.,
193, 1971, p. 209.