

Effet du peroxyde d'hydrogène et de la thiourée sur la composition biochimique des tubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.)

Mani F. ^(a), Bettaieb T. ^(b), Zheni K. ^(a), Doudech N. ^(a) et Hannachi C. ^(a).

a Institut Supérieur Agronomique Chott Mariem, Chott Mariem, Sousse, 4042, Tunisie

b Institut National Agronomique de Tunisie, Adresse : 43 Avenue Charles Nicolle, Tunis- Mahragène, 1082, Tunisie

Résumé

Dans cet essai sont examinés les effets de deux substances, le peroxyde d'hydrogène et la thiourée appliquées (trempage) sur des tubercules qui sont utilisés dans une deuxième étape comme semence pour une ultérieure culture en plein champ. Les deux substances appliquées sur les tubercules mères ont amélioré la tubérisation et la qualité des tubercules fils. En effet, le peroxyde d'hydrogène et la thiourée ont augmenté la synthèse des sucres réducteurs totaux dans les feuilles, ce qui se traduit par un enrichissement des tubercules en amidon (jusqu'à 16% par la thiourée 250 mM) et en protéines solubles.

Mots clés : Pomme de terre, thiourée, peroxyde d'hydrogène, qualité biochimique

Abstract

In this test are examined the effects of two substances, hydrogen peroxide and thiourea applied (soaking) on tubers which are used in a second step as a seeds. Both substances applied to tubers mother improved tuberization and tuber quality. Indeed, hydrogen peroxide and thiourea increased synthesis of total reducing sugars in the leaves, which results in an enrichment tuber starch (up to 16% by 250 mM thiourea) and soluble proteins.

Keywords: Potato, thiourea, hydrogen peroxide, biochemical quality

1. Introduction

Le critère de qualité le plus important dans le tubercule de pomme de terre est sa teneur en amidon, puisque l'utilisation des pommes de terre varie suivant leur teneur en amidon. Par exemple dans le cas des pommes de terre féculentes, des teneurs élevées en amidon sont recherchées. Par contre, chez les tubercules de pomme de terre destinés à la production de frites ou de chips, des teneurs moyennes en amidon sont favorisées. Pour les pommes de terre de consommation, la teneur en amidon est aussi importante que les caractéristiques de cuisson des pommes de terre. On cherchera ainsi à obtenir des tubercules de pomme de terre qui ne se décomposent pas pendant la cuisson, par conséquent riches en protéines [1].

En effet, le tubercule de pomme de terre contient en moyenne 2 % de protéines dont la valeur nutritionnelle est comparable à celle des protéines de l'œuf. La diversité génétique présente dans ces trois familles ainsi que leurs propriétés ont longtemps été sous-estimées. Leur valorisation alimentaire et non alimentaire commence à se développer grâce à l'établissement de nouveaux procédés d'extraction qui conservent les propriétés fonctionnelles des protéines solubles du tubercule de pomme de terre. Ces protéines trouvent des champs d'application dans plusieurs domaines, notamment dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique [2].

D'une part, une fertilisation optimisée et équilibrée influence les caractéristiques importantes de la qualité et du rendement du tubercule de pomme de terre, de sa

teneur en amidon et en protéines solubles, ce qui représente par conséquent un facteur primordial pour le prix de vente et pour la qualité de transformation [3,4]. D'autre part, l'influence positive du peroxyde d'hydrogène et de la thiourée sur la capacité germinative des tubercules de pomme de terre a été clairement démontrée dans de nombreux essais [5]. En revanche, l'effet ultérieur de ces deux substances sur la qualité du tubercule fils notamment sa teneur en amidon et en protéines solubles n'a pas été abordée. C'est le but de cette étude qui compare les actions des différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène et de thiourée sur le tubercule mère et sur la qualité biochimique des tubercules fils ainsi produits.

2. Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Le matériel végétal de départ se compose de tubercules de pomme de terre (\varnothing : 50 mm), variété Spunta qui sont récoltés à maturité physiologique d'une culture de saison. Ils sont divisés en trois lots, le premier lot est trempé dans une solution de peroxyde d'hydrogène (20,40,60 ou 80 mM), le deuxième est trempé dans une solution de thiourée (250, 500, 750 ou 1000 mM), le dernier lot de tubercules est trempé dans une solution d'eau distillée servant comme témoin. Le trempage a duré 2h. Tous les tubercules ainsi traités sont mis à germer dans l'obscurité pendant 20 jours à une température de 20°C et une humidité relative de 90%, puis plantés en plein champ.

Conduite culturale

La préparation du lit de la plantation consiste à labourer le sol par plusieurs passages afin d'obtenir une terre fine et ameublie. La plantation a eu lieu au début du mois d'octobre, soit 20 jours après traitement des tubercules. Le système d'irrigation adopté est le goutte-à-goutte programmé trois fois par semaine. L'eau d'irrigation a une conductivité de 1.4 mS.cm⁻¹ et un pH de 6.2. Sa composition chimique, exprimée en méq. l⁻¹ est la suivante : Ca²⁺ (7.4), K⁺ (0.1), Na⁺ (4.9) et Cl⁻ (5.9). Le sol est composé d'argile (11.5 %), de limon (22.5 %), de sable (61 %) et de matière organique (1 %). Son pH est de 7.6. Les quantités de fumures minérale et organique apportées au cours de l'essai et recommandées dans la région de Chott-Mariem pour la culture de la pomme de terre [6] [7] sont le fumier de ferme (30 t. ha⁻¹), l'azote sous forme de nitrate d'ammonium (N 33% :100 kg. ha⁻¹), le phosphore sous forme de superphosphate triple (P₂O₅ 45% :150 kg. ha⁻¹) et le potassium sous forme de sulfate K₂SO₄ (K₂O 54% : 400 kg. ha⁻¹).

Dispositif expérimental

La parcelle expérimentale, implantée au domaine de l'Institut Agronomique de Chott Mariem a pour dimensions 16 x 7.2 m. Elle est divisée en deux parcelles élémentaires, la première comporte les tubercules traités au peroxyde d'hydrogène, la deuxième concerne les tubercules traités par la thiourée. Chaque concentration de chacune de ces deux substances est représentée par 21 tubercules qui sont répartis au hasard sur 3 sous-parcelles (7 tubercules par sous-parcelle, c'est-à-dire sur une seule ligne de culture). Les lignes de culture sont écartées entre elles de 80 cm et les tubercules de 30 cm entre eux, soit une densité de 41.667 plants/ ha. Toute la parcelle est entourée par trois lignes de pomme de terre (hors-essais) pour réduire l'effet de bordure

Conditions de culture

La période de culture qui s'étend du 10 octobre au 26 janvier est caractérisée par des températures moyennes maximales de 21°C et minimales de 9°C, d'une photopériode de 10 h et une intensité lumineuse de 158 W. m⁻².

Paramètres mesurés

La teneur des plantes en sucres réducteurs totaux, ainsi que la teneur des tubercules en amidon et en protéines solubles sont évalués pour chaque concentration et pour chaque substance à raison de trios répétitions pour chaque concentration et pour chaque substance

Le dosage des sucres solubles est réalisé en pleine phase de croissance végétative soit 80 jours après plantation, sur des feuilles saines et mûres selon le protocole suivant :

Le saccharose est dosé par colorimétrie à 570 nm sur 100 µl de surnageant incubés pendant quelques minutes à la température ambiante en présence de tampon citrate (100 mM, pH 4.6) qui contient de l'invertase commerciale et de l'acide dinitrosalicilique. Les sucres réducteurs sont déterminés après ébullition du liquide pendant 10 min à 100°C, puis refroidissent pendant une minute. Différentes concentrations de glucose : 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 ; et 5 mg. l⁻¹ sont utilisées pour déterminer expérimentalement l'équation de la courbe étalon et pour calculer la teneur de saccharose en fonction du glucose. Cette équation est de la forme : C = concentration de glucose en mg. l⁻¹ et X= absorbance à 570. Le glucose et le fructose sont mesurés selon la procédure de Boehinger (1989). Elle est basée sur la réduction de NADP⁺ en NADPH⁺. La formation de NADPH est mesurée à 340 nm. Le glucose et le fructose sont préalablement phosphorylés par l'hexokinase (HK). Les mesures spectrophotométriques sont faites en trois étapes successives, espacées de 15 min. A 100 µl

d'échantillon sont ajoutés de l'eau distillée et du tampon –Tris. L'hexokinase (HK) et le glucose-6-phosphate (G-6-P) y sont additionnés pour faire la deuxième mesure. Le PGI est ajouté pour la troisième mesure.

Le dosage de l'amidon est réalisé après récolte sur les tubercules ayant été séchés à l'étuve pendant 7 jours à 70°C. Le protocole d'extraction est réalisé comme suit :

L'amidon est extrait selon la méthode décrite par Allfrey et Northcote (1977). Elle consiste à broyer les tubercules à froid dans un mortier en porcelaine dans de l'éthanol 80% (v/v). Le broyat liquide ainsi obtenu est centrifugé à 30 000g pendant 10 min à 2°C. Le surnageant est rejeté, le culot est recueilli, il est solubilisé dans une solution d'acide perchlorique 30% (v/v). Le mélange est incubé pendant 8 heures pour solubiliser l'amidon. En effet, c'est l'amylose qui est dosée sur l'extrait et qui interagit avec l'iode (I₂) pour donner une coloration bleue. Pour ce, un réactif d'iode est déjà préparé, à 0.5 ml de la solution d'amidon on ajoute 0.5 ml du réactif d'iode et 1 ml d'acide perchlorique 30%. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre (Type Camspec M330 UV / Vis) à

une longueur d'onde de 620 nm. Les résultats sont exprimés en mg/ g de matière fraîche.

Réactif d'iode : 0.06 g de I₂ dissous dans 10 ml d'eau distillée en présence de 0.6 g de KI, cette solution représente une solution stock qui sera conservée au réfrigérateur. Le réactif est préparé en mélangeant à chaque fois 0.1 ml de la solution stockée avec 9.9 ml de HCl 0.05 M.

La teneur en protéines solubles est déterminée par la méthode de Bradford (1976), le réactif de Bradford contient du bleu de Coomassie. L'interaction du réactif avec les protéines donne une coloration bleue. La concentration en protéines d'une solution est estimée en mesurant son absorbance à 595 nm en présence du réactif de Bradford (1 ml d'échantillon + 5 ml de réactif). Une gamme étalon est faite à l'aide d'une solution de sérum albumine de boeuf (BSA). La matière fraîche (100 mg) est homogénéisée dans une solution tampon phosphate 0.1 M (pH 7). L'homogénéisât est centrifugé à 13 000 rpm pendant 45 min, à 1 ml du surnageant on ajoute 5 ml du réactif et le mélange est incubé par la suite à l'obscurité pendant 15 min. La variation d'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 595 nm et convertie en mg /l. La procédure glm du SAS a été utilisée.

3. Résultats

Effet du peroxyde d'hydrogène et de la thiourée sur la composition biochimique du tubercule de pomme de terre

Teneur en amidon

Les plantes issues des tubercules témoins (trempés dans l'eau distillée) ont des teneurs en amidon égales à 16.7 mg. g⁻¹ de Matière fraîche. Ces teneurs augmentent significativement dans les tubercules des plantes issues des tubercules traités par le peroxyde d'hydrogène (40 et 60 mM) et la thiourée (250 et 750 mM). (Fig. 1 et 2).

Teneur des plantes en sucres réducteurs

Selon les figures 3 et 4, les feuilles des plantes issues des tubercules témoins ont des teneurs très faibles en sucres réducteurs totaux et en saccharose, le glucose et le fructose à l'état de traces. Quant aux feuilles des plantes issues des tubercules traités par le peroxyde d'hydrogène ou la thiourée, les teneurs en glucose et fructose se trouvent légèrement augmentées ou significativement augmentées dans le cas des sucres totaux et saccharose..

Teneur en protéines solubles

Les plantes issues des tubercules témoins ont des teneurs en protéines solubles voisines de 17 mg. g⁻¹ de Matière fraîche. Mais ces teneurs chutent significativement dans les feuilles des plantes issues des tubercules traités par le peroxyde d'hydrogène et la thiourée uniquement en présence de la plus forte concentration de chaque substance, 80 et 1000 mM respectivement. Les autres concentrations inférieures n'ont pas induit des différences significatives par rapport aux plantes témoins (Fig. 5 et 6).

4. Discussion

On remarque que le traitement par le peroxyde d'hydrogène (20 mM) et par la thiourée (500 et 1000 mM) diminue la quantité d'amidon dans le tubercule, ce qui est probablement dû à une mauvaise translocation des assimilats de la partie végétative vers la partie souterraine indiquant que la plante subit un stress chimique. En effet d'après Ayari [8] le stress s'accompagne généralement par une accumulation des hydrates de carbone dans les feuilles, et par un faible transfert des assimilats dans les organes puits. Ce qui entraîne l'accumulation des sucres qui répriment l'expression des gènes photosynthétiques et diminuent le rendement. Toutefois, on a noté que les plantes traitées par 250 mM de thiourée fournissent plus de tubercules mais de diamètre légèrement moins important que le reste des plantes [9]. Cela peut être attribué selon certains auteurs [10] [11] à un blocage momentané de la

synthèse d'amidon dû à une accumulation de saccharose et à une perturbation du statut osmotique du tubercule. En revanche, quel que soit le traitement et la concentration appliquée, le diamètre moyen des tubercules est d'environ 6 cm. Par conséquent, les traitements n'affectent pas significativement le diamètre moyen des tubercules. Ces résultats suggèrent que le diamètre du tubercule est un caractère intrinsèque à la variété. Cette constatation est cohérente avec les travaux de Mani et al. [9] et Horvart et Guler [12] [13].

La caractérisation biochimique des tubercules révèle des variations importantes selon les traitements administrés. Les faibles teneurs en saccharose observées chez les plantes traitées par le peroxyde d'hydrogène (40 et 60 mM), par la thiourée (250 et 750 mM) et chez les plantes témoins, pourraient être un indicateur précoce de la mise en œuvre de modifications métaboliques nécessaires à l'induction et à la formation du tubercule à l'extrémité du stolon et donc d'une tubérisation précoce [14] [15].

La teneur en saccharose dans les feuilles est faible chez les plantes ayant une teneur élevée en amidon et une teneur élevée en protéines solubles, ce qui est un indicateur précis de la richesse du tubercule en éléments nutritifs puisque dans ces conditions, la majorité du saccharose produit par les feuilles est transloqué dans le tubercule selon Sidikou [16]. Plusieurs éléments de réponse peuvent être apportés. D'une part, certains auteurs [17] [18] proposent l'existence de facteurs régulateurs communs entre l'accumulation de l'amidon et celles des protéines solubles ; d'autre part celle d'un contrôle de l'expression des protéines solubles par l'amylosynthèse (synthèse de l'amidon). Donc l'amidon et les protéines solubles s'accumulent parallèlement dans le tubercule et proportionnellement au saccharose transloqué depuis les feuilles jusqu'au tubercule [19] [20].

En revanche, la diminution de la teneur en protéines des plantes traitées par le peroxyde d'hydrogène peut être attribuée essentiellement à la répression des gènes de la patatine [21]. Cette modification du contenu en protéines solubles résulte d'une diminution de la capacité de synthèse protéique ainsi que d'une protéolyse accrue liée à une augmentation de la concentration en protéases de 84, 95 et 125 KDa, à une diminution de la concentration en multicystatine (PMC : Potato Multi Cystatin, un inhibiteur des protéases à cystéine) [22].

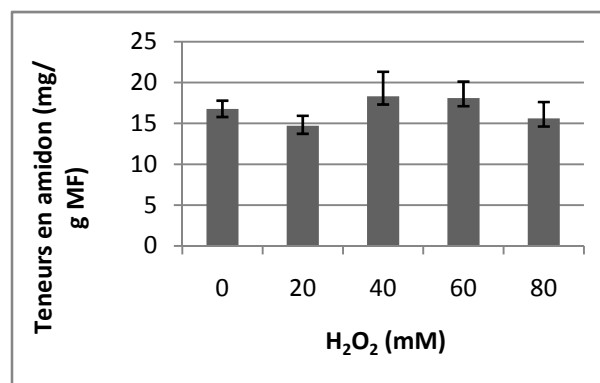


Fig. 1 : Effet du peroxyde d'hydrogène (0, 20, 40, 60 et 80 mM) sur la teneur en amidon dans les tubercules de pomme de terre, var. Spunta*.

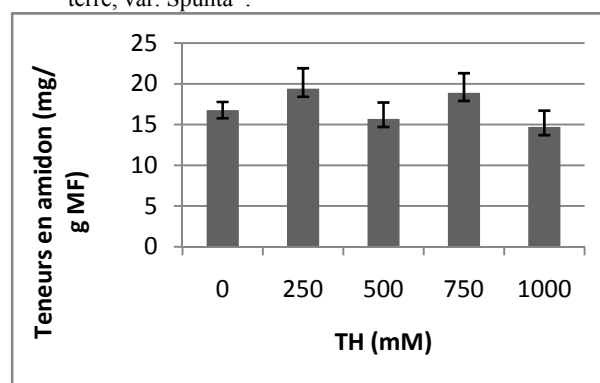


Fig.2: Effet de la thiourée (0, 250, 500, 750 et 1000 mM) sur la teneur en amidon dans les tubercules de pomme de terre, var. Spunta

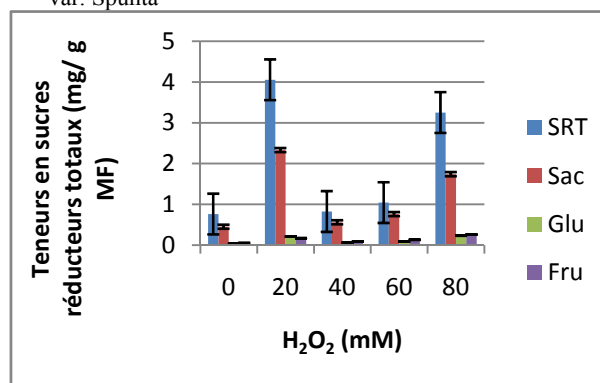


Fig. 3 : Effet du peroxyde d'hydrogène (0, 20, 40, 60 et 80mM) sur la teneur en sucres réducteurs totaux dans les plantes de pomme de terre, var. Spunta*.

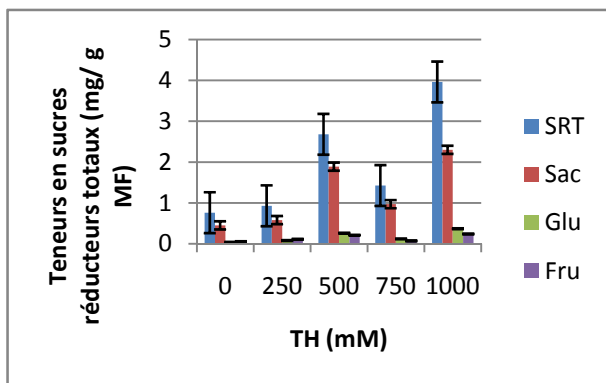


Fig. 4 : Effet de la thiourée (0, 250, 500, 750 et 1000 mM) sur la teneur des sucres réducteurs totaux dans les plantes de pomme de terre, var. Spunta.*

* SRT : Sucres réducteurs totaux, Sac : Saccharose, Glu : Glucose, Fru : Fructose

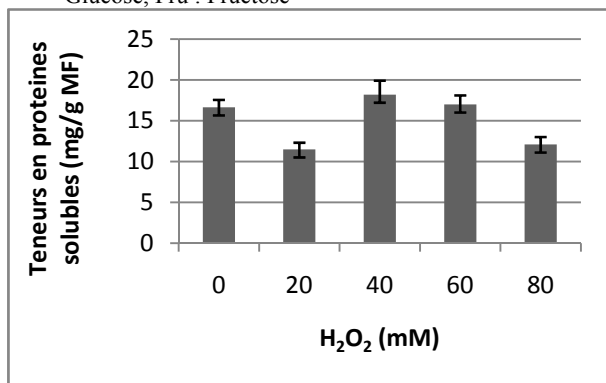


Fig.5: Effet du peroxyde d'hydrogène (0, 20, 40, 60 et 80 mM) sur la teneur en protéines solubles dans les tubercules de pomme de terre, var. Spunta.

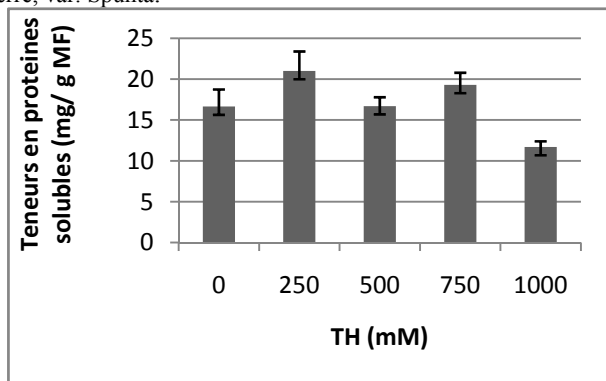


Figure 6 : Effet de la thiourée (0, 250, 500, 750 et 1000 mM) sur la teneur en protéines solubles dans les tubercules de pomme de terre, var. Spunta.

5. Conclusion

Les tubercules de pomme de terre fournis par des plantes, qui sont issues des tubercules préalablement trempés dans des solutions de peroxyde d'hydrogène ou de thiourée avant leur plantation ont eu une augmentation de leur teneur en amidon et en protéines solubles.

Le peroxyde d'hydrogène (40 mM) et la thiourée (250 mM) ont augmenté la teneur en amidon des tubercules. Cette richesse en amidon serait la conséquence d'une forte augmentation des sucres totaux et du saccharose mesurée dans les feuilles en pleine croissance des plantes traitées, soit des teneurs 4 fois plus que chez les feuilles des plantes témoins.

Références

- [1] A. Speranskaya, A. Krinitsina et T. Revina, Heterologous expression, purification, and properties of a potato protein inhibitor of serine proteinases. *Biochemistry-Moscow* 2006 ; 71 (2006) 1176-1182.
- [2] V. Deveux-Gobert. Protéines de pomme de terre : vers de nouveaux axes de valorisation. *Cahiers Agricultures*, 17(4) (2008) 407- 411.
- [3] J. Pardo, A. Alvarruiz, J. Perez, R. Gomez er R. Varon R. Physicalchemical and sensory quality evaluation of potato varieties. *J. Food Quality.*, 2000 (23): 149-160.
- [4] R.Marwaha, S.Pandey, D. Kumar, S.Singh et P. Kumar. Potato processing scenario in India: Industrial constraints, future projections, challenges ahead and remedi A review. *J. Food Sci. Technol.*, 47 (2010): 137-156.
- [5] M. Bajji, M. M'hamdi, F. Gasting, J. Rojas-Beltran, et P. Du Jardin P.. Catalase inhibition accelerates dormancy release and sprouting in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *Biotechnology, Agronomie, Société et Environnement*; 11(2007) 121-131.
- [6] C. Hannachi, P. Debergh, E. Zid, A. Messai et T. Mehouchi. Tubérisation sous stress salin de vitroplants de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 8 (1) (2004) 9-13.
- [7] S. Chehaibi, C. Hannachi, J. Pieters et R. Verschoore. Impactes de la vitesse d'avancement du tracteur sur la structure du sol et le rendement d'une culture de pomme de terre. *Tropicultura*, 26, 3 (2008) 195-199.
- [8] O. Ayari. Limitations et régulation de la photosynthèse chez la culture de la tomate de serre. Thèse de doctorat, Faculté des Etudes Supérieures de l'Université Laval, Canada (2000)170 -178.
- [9] Mani F., Bettaieb T., Zheni K., Doudech N., et Hannachi C. Effect of hydrogen peroxide and thiourea on fluorescence and tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Journal of stress physiology and biochemistry*. Vol. 8 No. 3 2012"
- [10] P. Delaplace, M. Fauconnier, et P. Dujardin. Méthodes de mesure de l'âge physiologique des tubercules semences de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Biotech. Agron. Soc. Environ.* 12 (2 (2008) 171-184.
- [11] B. Buchaman et Y. Palmer. Redox regulation: A broadening horizon. *Annu Rev Plant*; 56 (2005), pp:187-220.
- [12] T. Horvat, M. Poljak, A. Majić, Z. Svečnjak et V. Jurčić. Effects of foliar fertilization and water stress on yield and physiological characteristics of potato. *Cereal Research Communications*, 36, 3 (2008) 1659 - 1662.
- [13] S. Guler. Effects of nitrogen on yield and chlorophyll of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *Bangladesh J. Bot.* 38 (2)(2009) 163 - 169.
- [14] D. Kumar, B. Singh et P. Kumar P. An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. *Ann. Appl Biol.* 145 (2004) 247 - 256.

- [15] C. Foyer, L. Gomez et P. Van Heerden. Glutathione. In Smirnoff N., ed. Antioxidants and reactive oxygene species in plants. Oxford, UK : Blackwell Publishing, 2005. pp: 1-24.
- [16] R. Sidikou, D. Sihachakr , D. Lavergne, A. Nato, D. Ellissèche, B. Jouan et G. Ducreux. La microtubérisation chez la pomme de terre, voie d'amélioration et d'adaptation de la qualité nutritionnelle des tubercules. Maitrise des procédés en vue d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments. Utilisation des OGM, Analyse des risques en Agroalimentaire, Ouadougou, 8 - 11 Novembre , 2005.
- [17] P. Du Jardin . Physiologie de la tubérisation chez la pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum* L.) : quelques conclusions de données moléculaires. Quel avenir pour l'amélioration des plantes. Ed. AUPELF-URES. John Libbey Eurotext. Paris. (1994) 439 - 446.
- [18] C. Matsuura-Endo, A. Kobayashi, T. Noda, S. Takigawa, H. Yamauchi et M. Mori. Changes in sugar content and activity of vacuolar acid invertase during low-temperature storage of potato tubers from six Japanese cultivars. J Plant Res 117 (2004) 131 – 137.
- [19] E. Ortiz-Medina et D. Donnelly. Concentration and distribution of total soluble protein in fresh and stored potato tubers. Acta Hort 619 (2003) 323 -328.
- [20] J. Lachman, K. Hamouz, P. Dvořák, et M. Orsák. The effect of selected factors on the content of protein and nitrates in potato tubers. Plant Soil Environment., 51, 2005 (10): 431–438.
- [21] Y. Liu , C. Han , M. Lee, F. Hsu et W. Hou . Patatin, the tuber storage protein of potato (*Solanum tuberosum* L.) exhibits antioxidant activity in vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51 (2003) 4389 - 4393.
- [22] S. Lehesrants , H. Davies , L. Shepherd, K. Koistinen, N. Massat, N., Nunan, J. Mcnicol, et Karenlampi S., 2006. Proteomic analysis of the potato tuber life cycle. Proteomics. 6 (2006) 6042 - 6052.