

## Multiplication *in vitro* du papayer au Vietnam

Dam Thanh Giang, Le Thi Anh Hong

Le papayer (*Carica papaya* L.) est une caricaceae, originaire des zones tropicales de l'Amérique centrale, plus précisément du Yucatan [1]. Il est aujourd'hui cultivé dans toutes les régions intertropicales où il présente un intérêt économique marqué. D'abord pratiquée dans le cadre de l'agriculture de subsistance, sa culture est devenue de plus en plus spéculative pour son fruit et pour la production de papaïne, une enzyme utilisée dans l'industrie.

Au Vietnam, le papayer a été introduit au XVII<sup>e</sup> siècle [2]. L'essentiel de la production de papaye est assurée par de petits exploitants. Traditionnellement, la reproduction se fait à partir de graines, ce qui engendre de nombreux inconvénients :

- le papayer étant dioïque, une période de six mois au moins est nécessaire pour sélectionner les plantes productives ;
- la sélection et la stabilisation du matériel génétique ne sont pas assurées ;
- la maîtrise de l'état sanitaire est difficile et 90 % du matériel produit d'une manière artisanale est infecté par des agents pathogènes, notamment des virus [3]. Depuis le début des années 80, une politique de pro-

duction plus rationnelle a été mise en place. Afin de mener à bien cet objectif, on a développé des programmes de plantations et de production d'un matériel de qualité en vue d'une diffusion auprès des producteurs. C'est dans ce cadre que nous avons étudié la multiplication *in vitro* du papayer, qui s'est d'abord développée aux Etats-Unis, en Inde et en Australie [4-7].

La mise au point d'un protocole reproductible de micropropagation et d'assainissement, pour obtenir une population homogène de sexe prédéterminé, ainsi que l'optimisation des milieux de culture constituent l'objet de la présente recherche.

Le matériel végétal de départ est constitué de plantes femelles, prélevées chez des producteurs d'une région agricole entourant Hanoi, Tuliem. On prélève des apex sur des individus ayant fleuri, issus de la variété commerciale TL. Avant le transfert au laboratoire, les apex sont lavés et désinfectés avec de l'eau oxygénée.

Le milieu de culture de base est le milieu MS [8] solidifié, sans charbon actif, additionné d'un mélange comportant 0,5 mg/l de BAP, 0,1 mg/l d'AIA, 10 mg/l d'adénine, 6 g/l d'agar. Ce milieu a été défini sur base de données de la littérature [9-11] et de notre propre expérimentation sur d'autres espèces végétales.

Les apex de 0,1 à 1,5 millimètre sont prélevés sur des plantes indexées sur base d'observations visuelles (absence de symptômes de maladies) ; ils sont placés sur le milieu de culture et fournissent, après six à sept semaines, trois à six pousses (explants avec feuilles) ou bourgeons (explants sans feuilles). Le matériel ainsi obtenu est utilisé pour obtenir les proliférations ultérieures.

Dans le milieu MS, additionné de 6 g/l d'agar et de 30 g/l de saccharose, la durée d'obtention de touffes proliférantes à partir des bourgeons et des pousses est de quatre semaines.

En vue de déterminer la concentration utile en régulateur de croissance pour les différentes orientations de l'organogenèse, nous avons testé les combinaisons suivantes entre les différents additifs : kinétine (0,5, 1, 1,5 ou 2 mg/l) ; BAP (0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 ou 1 mg/l) ; rapport cytokinine/auxine en mélangeant 0,5 mg/l de BAP avec l'AIA (0,1, 0,3, 0,5, 0,7 ou 1 mg/l) ou l' $\alpha$ NAA (0,05, 0,1, 0,2 ou 0,3 mg/l). Du lait de coco a été ajouté au milieu de base MS (+ 6 g/l d'agar + 30 g de saccharose, 0,5 mg/l BAP, 0,1 mg/l d' $\alpha$ NAA) à raison de 0, 100, 150 ou 200 ml/l en raison de son effet généralement bénéfique dans nos travaux antérieurs. Pour la rhizogenèse, nous avons testé six concentrations d'auxines IBA (1, 1,5, 1,7, 2,0, 2,2 ou 2,5 mg/l dans le milieu de base dilué deux fois MS/2) ou deux concentrations d'IBA (1,5 ou 2 mg/l) + 30/l g de saccharose + 6 g d'agar dans les milieux MS non dilué ou dilué deux fois. Le transfert des vitroplants en vue de leur acclimatation a été testé sur trois substrats : sable désinfecté, terreau désinfecté et mélange d'une part de sable + une part de terreau.

L'ensemble des résultats consignés dans les tableaux 1, 2, 3 et 4 représentent la moyenne de trois répétitions avec un intervalle de confiance de 0,3 %.

Ce travail a été effectué dans un laboratoire associé francophone dans le cadre de l'AUPELF-UREF.

Dam Thanh Giang, Le Thi Anh Hong :  
Laboratoire de pathologie végétale, Institut  
de génétique agronomique, Conhue-Tuliem-  
Hanoi, Vietnam.

Tirés à part : Dam Thanh Giang

Cahiers Agricultures 1997 ; 6 : 527-30  
Agriculture et développement 1997 ; 15 : 209-12



**Tableau 1**

**Effet de la kinétine et du BAP sur le taux de prolifération *in vitro* des explants de papayer**

Concentration en régulateur de croissance	Kinétine (mg/l)				BAP (mg/l)							
	0,5	1	1,5	2	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	
Nombre de pousses initiales	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	
Nombre de pousses* et bourgeons** après quatre semaines	216	226	232	237	98	180	206	270	342	363	704	
Taux de prolifération (%)	2,4	2,5	2,6	2,6	1,1	2	2,3	3	3,8	4	7,8	
Nombre de pousses utiles***	104	115	122	127	90	121	124	153	164	146	56	
Pousses utiles (%)	48,1	50,9	52,4	53,6	91,8	67,2	60,2	56,7	47,9	40,2	7,9	

\* pousses : explants avec feuilles ; \*\* bourgeons : explants sans feuilles ; \*\*\* pousses de 3 cm et plus

**Effect of kinetin and BAP on proliferations rate of papaw explants *in vitro***

**Tableau 2**

**Effet de l'auxine et du lait de coco sur le taux de prolifération *in vitro* des explants de papayer**

Concentration du régulateur de croissance : BAP = 0,5 mg/l	AIA (mg/l)					αNAA (mg/l)					Lait de coco (%)				
	0,1	0,3	0,5	0,7	1	0,05	0,1	0,2	0,3	0	5	10	15	20	
Nombre de cals initiaux	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	
Nombre de pousses et bourgeons après quatre semaines	336	323	276	244	234	270	367	259	125	367	370	383	396	379	
Taux de prolifération	3,7	3,6	3,1	2,7	2,6	3	4,1	2,9	1,4	4,1	4,1	4,3	4,4	4,2	
Nombre de pousses utiles	142	155	142	140	161	110	160	98	33	160	165	177	186	170	
Pousses utiles (%)	42,3	48	51,4	57,4	68,8	40,7	43,6	37,8	26,4	43,6	44,6	46,2	47	44,8	

**Effect of auxin and coconut milk on *in vitro* proliferation of papaw explants**

**Effet des cytokinines sur le taux de prolifération**

Le *tableau 1* montre que le taux de prolifération et le nombre de pousses augmentent avec la concentration en BAP (le taux de prolifération passe de 1,1 à 7,8 pour une augmentation de 1% de BAP), tandis que le nombre de pousses utiles diminue ; la meilleure proportion de pousses vigoureuses est obtenue avec 0,5 mg/l de BAP.

Les résultats obtenus en faisant varier l'AIA, l'αNAA et le lait de coco sont présentés au *tableau 2*. L'augmentation de la concentration en AIA diminue le taux de prolifération, mais donne une meilleure proportion de pousses utiles. Le meilleur résultat en termes de pousses utiles (> 3 cm) est obtenu pour une concentration de 0,1 mg/l de αNAA, tandis que l'addition de 15 % de lait de coco joue un rôle positif sur la longueur des explants. Globalement, le taux de prolifération optimum de pousses utiles est obtenu avec le milieu de culture MS + 0,5 mg/l BAP + 0,1 mg/l d'αNAA +

150 ml/l de lait de coco + 30 g/l saccharose + 8 g/l d'agar (*photo 1*).

Le *tableau 3* présente les résultats relatifs à l'enracinement. L'augmentation de la concentration en IBA favorise le taux d'enracinement et la proportion de vitroplants utilisables, le meilleur résultat en termes de plantes bien racinées étant obtenu pour une concentration de 2 % de IBA. La dilution au demi du milieu de base a par ailleurs un effet positif sur la production de racines et la production optimale de plants bien enracinés est obtenue pour une concentration de 2 % d'IBA dans un milieu de base MS/2.



**Tableau 3**

**Effet de l'auxine sur l'enracinement des vitroplantules de papayer**

Concentration de l'auxine IBA et dilution du milieu MS	IBA (mg/l - MS/2)						IBA = 1,5 mg/l			IBA = 2,0 mg/l		
	1	1,5	1,7	2	2,2	2,5	MS	MS/2	MS/4	MS	MS/2	MS/4
Pourcentage d'enracinement après deux semaines	0	25,3	34,7	45,3	65,9	73,5	0	25,3	32,7	0	45,3	68
Pourcentage d'enracinement après quatre semaines	12,7	73,7	75,5	87,5	89,8	91,8	69,2	73,7	83,5	71,4	87,5	90,2
Plantes bien racinées (4 semaines) (%)	2	4,5	21,2	25	13	5	0	4,5	8,6	0	25,1	10
Plantes moyennement racinées (4 semaines) (%)	11,7	57,8	52,5	65	65,8	67,5	0	57,8	68,2	0	65	67,5
Plantes faiblement racinées (4 semaines) (%)	86,3	37,7	8	10	21,2	27,5	100	37,5	23,2	100	10	22,5

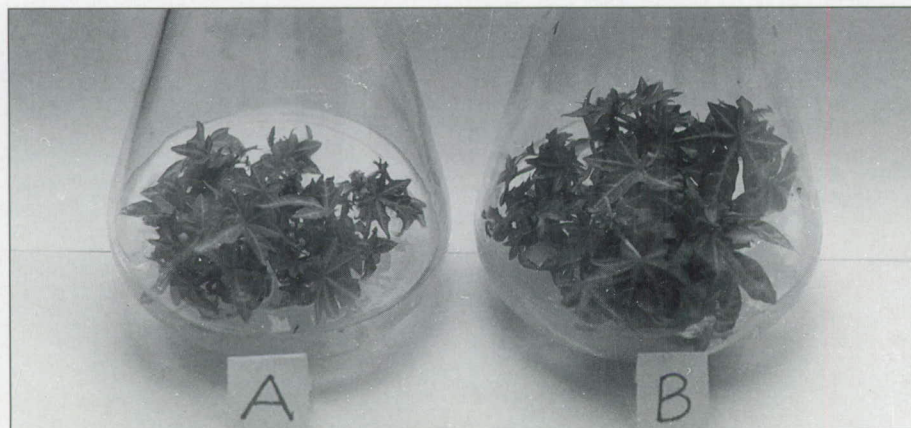
**Effect of auxin on rooting of papaw vitroplantlets**

**Tableau 4**

**Influence du substrat sur les vitroplants transplantés**

Substrat	Sable	Sable (1 part) + terreau (1 part)	Terreau
Nombre de vitroplants transplantés	60	60	60
Nombre de vitroplants après trois semaines	55	48	8
Plants vivants après trois semaines (%)	92	80	13

**Effect of transplantation of papaw vitroplantlets in different soils**



**Photo 2.** Vitroplant de papayer prêt à la plantation.

**Photo 2.** Papaw vitroplant ready for planting.

**Photo 1.** Influence du lait de coco sur le taux de prolifération *in vitro* du papayer. A : sans lait de coco ; B : avec lait de coco.

**Photo 1.** Influence of cocomilk on *in vitro* propagation of papaw. A : without cocomilk ; B : with cocomilk.



Le tableau 4 illustre les résultats obtenus avec différents substrats utilisés pour le transfert des vitroplants en vue de leur acclimatation. Le sable donne le meilleur résultat, 92 % de plants après trois semaines de culture *in vitro*. Passé ce délai, les plants sont transférés en conteneur plastique contenant du terreau fertilisé. Après six à sept semaines, les plants de 15 à 17 centimètres avec sept ou neuf feuilles sont mis à disposition des producteurs (photo 2).

En juin 1997, plus de 90 % des papayers *in vitro* livrés aux producteurs s'étaient développés normalement et présentaient une bonne homogénéité, tant du point de vue de la vigueur que de l'état sanitaire. Un suivi de ces plantes, notamment de leur évolution par rapport à la production traditionnelle, est actuellement en cours et une évaluation économique du procédé sera ensuite réalisée.

## Conclusions et perspectives

La technique de production de plants de papayer mise au point par notre laboratoire a donné des résultats satisfaisants, dans les

conditions de recherche du Vietnam (prix de revient acceptable). A l'avenir, une comparaison avec d'autres milieux de production *in vitro* obtenus ailleurs (Inde, Etats-Unis, Australie) s'avérera utile, tant du point de vue de l'amélioration de la productivité et de l'état sanitaire que du prix de revient.

Après affinage éventuel de la méthodologie, le stade suivant sera le passage à la production intensive, ainsi que la popularisation, auprès des producteurs. Les plants sélectionnés, à la fois plus productifs et de meilleure qualité sanitaire rendraient à terme le Vietnam plus compétitif sur le marché de la papaye et de ses dérivés, tant sur le plan national qu'international. ■

### Remerciements

Les auteurs remercient Jean Semal pour la relecture du manuscrit.

### Références

1. Chateau R. Notes sur le genre *Carica* L. *Bulletin agricole du Congo Belge* 1955 ; 46 : 261-70.
2. Duong DT, Vo VC. *Taxonomies des plantes*. Hanoi : Editions Enseignement et formation, 1978 : 272-6.

3. Ha MT, et al. Quelques résultats d'études de virus d'importance économique chez le papayer, le bananier et les légumineuses. *Bulletin agricole du Vietnam* 1993 ; 50 : 22-7.

4. Driew RA, Smith NG. Growth of apical and lateral buds of papaw (*Carica papaya* L.) as affected by nutritional and hormonal factors. *J Hort Sci* 1986 ; 61 : 535-3.

5. Driew RA. The effects of medium composition and cultural conditions on *in vitro* root initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). *J Hort Sci* 1987 ; 62 : 551-6.

6. Litz RE, O'Har SK, Conover RA. *In vitro* growth of *Carica papaya* L. cotyledons. *Scientia Horticulturae* 1983 ; 19 : 278-93.

7. Litvine M. *Le papayer (Carica papaya L.)*. Mémoire 3<sup>e</sup> cycle, Certificat d'Etudes spéciales en phytotechnie des régions chaudes. Faculté des Sciences agronomiques de l'Etat, Gembloux, Belgique 1983 ; 160 p.

8. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 1962 ; 15 : 473-97.

9. Arora IK, Singh RN. Growth hormones and *in vitro* callus formation of papaya. *Scientia Horticulturae* 1978 ; 8 : 357-61.

10. Bhojwani SS, Razdan MK. *Plant tissue culture : theory and practice*. Amsterdam : Elsevier Science Publishers, 1983 : 342-52.

11. George EF, Sherrington PO. *Plant propagation by tissue culture. Handbook and directory of commercial laboratories*. Hants : Exegetics Ltd, 1984 ; 709 p.

### Résumé

#### Multiplication *in vitro* du papayer au Vietnam

Au Vietnam, la propagation traditionnelle du papayer à partir de graines a deux désavantages : la séparation des sexes (et les difficultés corrélatives de sélection qui en résultent) et les contaminations virales. On a développé une méthode de production de plantules de papayers sains par micropropagation *in vitro* d'explants d'individus femelles exempts de symptômes viraux. Les explants ont été cultivés sur milieu gélosé contenant 0,5 mg/l BAP, 0,1 mg/l AIA et 1 mg/l adénine. Après six à sept semaines, trois à six pousses avec des feuilles ou des bourgeons se sont développées et sont utilisées pour la propagation ultérieure. Le nombre de pousses croît avec la concentration en BAP, mais le taux de pousses utiles (> 3 cm) diminue, le meilleur résultat étant obtenu avec 0,5 mg/l ; la concentration de 0,1 mg/l en  $\alpha$ NAA est la meilleure, en mélange avec 15 % de lait de coco. L'enracinement s'opère au mieux dans le milieu MS dilué deux fois. L'acclimatation en sol est la plus adéquate dans du sable ou dans un mélange de sable et de compost.

### Summary

#### Vitropropagation of papaw in Vietnam

In Vietnam, traditional propagation of papaw from seeds has two major drawbacks: the separation of sexes (and the correlative difficulties of selecting genetically stable productive progeny) on one side, and viral contaminations on the other side. A reproducible method of producing healthy papaw plantlets was developed through tissue culture micropropagation from explants of female individuals devoid of viral symptoms. Explants were grown on agar medium containing 0.5 mg/l BAP, 0.1 mg/l ATA, and 1 mg/l adenine. After 6-7 weeks, 3-6 shoots with leaves or buds were formed, and used for further proliferation. The number of shoots increased with BAP concentration, but the rate of useful shoots (> 3 cm) decreased, the best results being obtained with 0.5 mg/l. The concentration of 0.1 mg/l  $\alpha$ NAA was best when mixed with 15% cocomilk. Rooting was optimal in 2% IBA in 2-fold diluted MS medium. Adequate transfer into soil was obtained in sand, or in a mixture of sand and compost.

### Tóm tắt

#### Nhân giống vô tính cây đu đủ ở Việt Nam bằng nuôi cấy *in vitro*.

Ở Việt Nam, việc nhân giống cổ truyền cây đu đủ bằng gieo hạt có 2 bất lợi: Sự phân ly giới tính (và những khó khăn trong tương quan giới tính gây ra) và sự nhiễm bệnh virus.

Họ đã phát triển một phương pháp sản xuất đu đủ con sạch bệnh bằng nhân giống *in vitro* từ những cá thể cây cái đã được lựa chọn và đã loại trừ bệnh virus.

Những mẫu cây đã được nuôi cấy trên môi trường có thành phần 0.5mg/l BAP, 0.1mg/l IAA và 1mg/l Adénine. Sau 6 đến 7 tuần, 3 đến 6 chồi cùng với lá hoặc các chồi không lá đã được phát triển và được xử dụng để nhân giống tiếp theo. Số lượng chồi tăng cùng với nồng độ của BAP nhưng tỷ lệ chồi hữu hiệu (>3cm) lại giảm. Kết quả tốt nhất thu được với nồng độ của BAP là 0.5mg/l. Nồng độ của  $\alpha$ NNA là 0.1mg/l khi kết hợp với 15% nước dừa sẽ cho kết quả cao nhất. Môi trường MS được pha loãng 2 lần sẽ cho ta kết quả ra rễ cao nhất.