

# Étude de la microtubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sahel

Ramatou Djermakoye Seyni Sidikou<sup>1</sup>  
 Darasinh Sihachakr<sup>2</sup>  
 Danièle Lavergne<sup>3</sup>  
 Aimé Nato<sup>1</sup>  
 Daniel Ellissèche<sup>4</sup>  
 Bernard Jouan<sup>5</sup>  
 Georges Ducreux<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de morphogenèse végétale expérimentale,

Bât. 360,  
 Université Paris-Sud,  
 91405 Orsay Cedex, France  
 <sidikouramatou@hotmail.com>

<sup>2</sup>Laboratoire d'écologie, systématique, évolution,

Bât. 360,  
 Université Paris-Sud,  
 91405 Orsay Cedex, France

<sup>3</sup>Institut de biotechnologie des plantes,  
 Bât. 630,

Université Paris-Sud,  
 91405 Orsay Cedex, France

<sup>4</sup> Station Inra d'amélioration de la pomme de terre et des plantes à bulbes, Keraïber,

29260 Ploudaniel, France  
<sup>5</sup> UMR Inra/Ensar

Biologie des organismes et des populations appliquée à la protection des plantes [BiO3P],  
 Domaine de la Motte,  
 BP 35327-F,  
 35650 Le Rheu Cedex, France

## Résumé

Des recherches sur la mise en œuvre et la gestion de la microtubérisation ont été réalisées à partir de 10 variétés tétraploïdes de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) choisies pour leur meilleure adéquation avec les conditions de culture au Sahel. Les études comparatives ont été menées à l'obscurité et à 20 °C, sur deux gammes de milieux de tubérisation, avec une concentration en saccharose variant de 20 à 120 g.L<sup>-1</sup>, d'une part en absence de cytokinine (BAP, 6-Benzylaminopurine) et, d'autre part, avec une concentration en cytokinine variant de 0 à 5 mg.L<sup>-1</sup>. Kennebec, Désirée, Sahel présentent de meilleures aptitudes à la microtubérisation. Les variétés testées peuvent tubériser même avec une faible dose de saccharose, et ce dès la 1<sup>re</sup> semaine. Les meilleurs rendements s'observent avec plus de 80 g de saccharose par litre de milieu. Le rendement en masse des microtubercules est proportionnel à leur maturité et au pourcentage de saccharose dans le milieu. Le saccharose et la BAP favorisent l'induction de la tubérisation. Il n'y a pas de phénomène de dormance des microtubercules. Les analyses biochimiques conduites montrent que les teneurs en protéines solubles totales, saccharose et amidon sont proportionnelles à la quantité de saccharose et de BAP dans le milieu. Les génotypes Atlas et Sahel s'avèrent être les plus performants.

*Mots clés* : Biotechnologie ; Physiologie végétale.

## Summary

### Contribution of microtuberisation to the adaptation of potato culture in the Sahel

Since the development of potato culture in the Sahel is limited by the difficulty of tuber-seed supply, the production of microtubers may offer the opportunity to meet the demand for tuber seeds. In this study, the production and management of microtubers were carried out using 10 varieties of potatoes, chosen for their adaptation to the conditions of the Sahel.

The selected genotypes were micropropagated *in vitro* in media containing different concentrations of sucrose (2-12%) and benzylaminopurine (BAP) (0-5 mg/L). The number of microtubers obtained, their size and weight, as well as the contents of total soluble proteins, sucrose and starch, were determined. They could be used as early markers of tuberisation and tuber quality. Microtubers were formed after one week on the richest medium used, and the Aïda, Atlas, Claustar, Kennebec varieties yielded 100% tuberisation within 2 weeks. The frequency of tuberisation raised with increasing concentrations of sucrose (8%, 10%, 12%) and BAP (5 mg/L), but it varied with genotypes. Microtubers did not present the phenomenon of dormancy. The contents of total soluble proteins, sucrose and starch were also increased with components of the culture medium. BAP strongly induced microtuberisation whereas sucrose would have inductive and nutritional effects. The highest contents of proteins was observed in rich medium (T100), and varied with the Atlas (8.15 µg prot/mg microtuber), Sri (7.29 µg), Sahel (6.76 µg), Claustar (6.29 µg), Kennebec (6.21 µg) genotypes. In the basal medium (T0 : 10% sucrose, without BAP), the best early tuberisation was observed with the Kennebec (80%), Désirée (75%), Spunta and Pamina (60%) varieties. Kennebec produced the biggest microtubers (106 mg), followed by Spunta (60 mg), Aïda (58 mg) and Pamina (49 mg). Protein contents were 4.4 µg/mg microtuber for Claustar, 4.29 µg for Atlas, and 4.16 µg for Sahel. Sucrose contents were estimated at 4.88 µg/mg microtuber for Sahel, 3.81 µg for Claustar, 3.65 µg for Pamina, 3.56 µg for Atlas. Starch contents were 0.64 µg/mg microtuber for Claustar, 0.43 µg for Buck, 0.36 µg for Kennebec and 0.31 µg for Atlas. The Kennebec, Spunta, Aïda, and

Pamina varieties gave the best yield of microtubers. Qualitatively, higher contents of sucrose and starch of microtubers obtained in basal medium were observed in the Atlas, Sahel, Désirée, and Claustar varieties. Taking into account the lower costs of production and better quality of microtubers, as well as their availability irrespective of climate and soil constraints, the production of microtubers may effectively contribute to the development of potato culture in Sahelian regions.

*Key words:* Biotechnology; Vegetals physiology.

Dans le cadre d'un programme de recherche-développement sur la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) au Sahel, un ensemble d'essais variétaux à partir de minitubercules a été mené au Burkina-Faso, au Mali et au Niger, avec la collaboration de SOC International, de l'Inra de Rennes et de Plou-daniel et de l'université Paris XI d'Orsay [1]. Ces essais ont montré que les minitubercules pouvaient être utilisés comme semences, le premier obstacle au développement de cette méthode au Sahel étant l'approvisionnement. Les pays sahé-liens dépendent, en effet, de l'extérieur, pour des raisons de disponibilité et de stockage des tubercules. L'obtention de microtubercules (tubercules obtenus *in vitro*) comme étape de départ d'un système local de production de minitubercules (1<sup>re</sup> génération de tubercules obtenus *in vivo*, en serre) pourrait assurer à terme l'approvisionnement des utilisateurs de plants.

À cet effet, des recherches sur la mise en œuvre et la gestion de la microtubérisation ont été menées au laboratoire de morphogenèse expérimentale d'Orsay à partir de 10 variétés de pomme de terre choisies pour leur meilleure adéquation avec les conditions de culture au Sahel, afin de déterminer les variétés ayant les meilleurs taux de tubérisation tout en étant les moins exigeantes en milieu de culture, c'est-à-dire des génotypes entraînant les coûts de production les plus faibles. À cet effet, il faut maîtriser au mieux la physiologie de l'explant végétatif de départ (facteurs endogènes) et les conditions du déclenchement de la tubérisation (facteurs exogènes). La microtubérisation est sous la dépendance des facteurs externes (environnementaux, nutritionnels et hormonaux), mais avant tout du génotype [2-4]. La photopériode est le principal facteur externe : jours courts ou obscurité induisent la formation des microtubercules [5, 6]. Les effets de la lumière varient en fonction des cultivars. Kennebec donne les meilleurs rende-

ments en taille et en masse de tubercules, à faible intensité lumineuse ou sur courte photopériode plutôt qu'à l'obscurité. La production de microtubercules est favorisée par les températures de 15 à 20 °C et ce, même en l'absence de cytokinines telle que la kinétine [7]. Suivant les auteurs, la température optimale de tubérisation se situe à 18 °C [8] ou 20 °C [4]. Des températures plus élevées diminuent le rendement [9] en perturbant la tubérisation et en provoquant des repousses. Quant aux très basses températures (inférieures à 4 °C), elles inhibent fortement les réactions métaboliques. Au niveau des facteurs nutritionnels, le saccharose intervient dans le processus de la tubérisation en induisant la synthèse de nombreuses protéines comme la patatine ou l'ADP glucose pyrophosphorylase [10]. Il agit comme signal pour la régulation du niveau des enzymes impliqués dans ce processus. Une bonne tubérisation requiert une concentration minimale de saccharose (6 %). Une concentration élevée en saccharose induit la tubérisation, même en l'absence de substances de croissance, l'optimum (entre 6 et 10 %, généralement 8 %) étant fonction des génotypes [11]. La pression osmotique du milieu ne jouerait pas de rôle crucial malgré le fait que la tubérisation soit accélérée par des concentrations élevées de saccharose. Le saccharose induit et active l'expression des gènes dirigeant la synthèse de l'amidon, et par là même son accumulation dans les tubercules [12]. Parmi les multiples activateurs de croissance (gibbérellines, cytokinines, auxines, coumarine, acides phénoliques, éthylène), les cytokinines jouent le rôle majeur en matière d'induction de la tubérisation chez *Solanum tuberosum* L. [13]. Les gibbérellines, les auxines, l'azote, l'éthylène inhibent la tubérisation, tandis que les cytokinines, la coumarine, l'acide abscissique, les acides phénoliques sont des agents stimulants [14]. Certains auteurs estiment que les cytokinines ne sont pas directement responsables de l'initiation des tu-

bercules [10]. Cependant, la BAP (6-benzylaminopurine) élèverait le taux de microtubérisation [4]. L'optimum de concentration de BAP dans le milieu de culture se situerait autour de 2 mg/L [4] ou de 10 mg/L [10].

La production des tubercules est généralement quantifiée sur la base d'observations morphologiques (par exemple, nombre, poids, calibre). Afin de valider ces observations sur le plan physiologique et de disposer d'éléments de comparaison, nous avons essayé d'identifier des critères analytiques. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à des marqueurs biochimiques, classiquement corrélés à la tubérisation (saccharose, amidon, protéines totales) [10] chez 10 génotypes tétraploïdes de pomme de terre.

## Matériel et méthode

### Microtubérisation *in vitro*

Les travaux ont porté sur dix variétés (tableau 1) cultivées *in vitro*. La pomme de terre dégagant de l'éthylène nocif à sa croissance, nous avons utilisé des bocaux de 10 cm de diamètre sur 15 cm de hauteur. Cent boutures de nœuds par variété (à raison de 10 nœuds par pot) ont été mises en culture *in vitro* sur 50 mL de milieu solide MS (Murashige et Skoog [15]) contenant 2 % de saccharose, à 20 °C, sous une photopériode de 14 heures de lumière. Après la phase de croissance de 4 semaines sur milieu solide, 25 mL de milieu liquide de tubérisation ont été ajoutés dans chaque bocal, avec transfert à l'obscurité à 20 °C. Le milieu liquide est de type Murashige et Skoog, sans NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> ni charbon actif, contenant 5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP et différentes concentrations de saccharose (20, 50, 80, 100 et 120 g.L<sup>-1</sup>, soit les milieux T20, T50, T80, T100 et T120). Un autre essai a été réalisé avec une seule concentration

**Tableau 1. Liste des 10 variétés de pomme de terre (*S. tuberosum*) testées.**

Table 1. List of the 10 potato cultivars studied.

Variétés	Origines génétiques	Caractères généraux-Maturité
Aïda (Ai)	Spunta × Vivaks	Variété demi-tardive. Tubercules oblongs allongés.
Atlas (At)	Spunta × José	Variété relativement tardive, productive, sensible aux virus de l'enroulement. Tubercules très gros, peu nombreux et peu sensibles à l'égermage. Moyenne à demi-tardive.
Buck (Bu)	CIP	Longue conservation (1 cycle par an). Floraison et fructification au Niger. Tubérise bien en pays chauds.
Claustar (Cl)	Sirtéma × [(BF15 × 835a4) × Depesche]	Variété rustique, très productive. Gros tubercules, réguliers, à yeux superficiels. Bonne conservation. Faible teneur en matière sèche. Demi-précoce.
Désirée (Dé)	Urgenta × Depesche	Variété productive. Gros tubercules ; peau rouge. Sensible à la gale commune. Très bon rendement au Niger. Moyenne à demi-tardive.
Kennebec (Ke)	(Chippewa × Katahdin) × (Sämling 3895.13 × Earlane)	Tubercules oblongs, courts, réguliers, à chair blanche. Bonne conservation. Floraison et fructification au Niger. Tubérise bien en pays chauds. Moyenne à demi-tardive.
Pamina (Pa)	Spunta × Hydra	Variété très vigoureuse, productive. Gros tubercules réguliers à peau jaune. Sensible aux chocs et au mildiou. Demi-tardive.
Sahel (Sa)	Clause 7 P3 × Claustar	Variété productive. Rendements élevés. Gros tubercules oblongs et courts. Précoce à demi-précoce.
Spunta (Sp)	Béa × U. S. D. A. 96-56	Variété vigoureuse, très productive. Tubérisation relativement précoce. Gros tubercules réguliers de forme allongée. Faible teneur en matière sèche. Demi-précoce.
Sri (Sr)	CIP	Floraison et fructification au Niger. Tubérise bien en pays chauds. Bon rendement.

de saccharose (100 g.L<sup>-1</sup>) et trois concentrations de BAP (0,2,5 et 5 mg.L<sup>-1</sup>), soit les milieux T0, T2,5 et T5. La cinétique et le rendement de la microtubérisation (nombre, masse et calibre des vitrotubercules) ont été enregistrés tous les 7 jours pendant 8 semaines. Les microtubercules obtenus ont été conservés par congélation en vue d'analyses portant sur le dosage des protéines solubles totales du saccharose et de l'amidon.

## Analyses biochimiques

Les analyses ont été réalisées sur microtubercules âgés de 8 semaines et issus des milieux T20, T80 et T100 et T0, T2,5 et T5.

### Extraction

Les microtubercules (60 mg au minimum) ont été broyés en présence d'un tampon d'extraction Hépès 0,1 M, à pH 7,5 (rapport poids/volume 1:9). Après centrifugation (10 000 g pendant 4 min.), les surnageants sont récupérés pour le dosage du saccharose et des protéines solubles et le culot pour le dosage de l'amidon. Les extraits sont congelés.

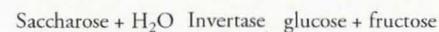
### Dosage des protéines solubles totales

Chaque échantillon de 50 µL d'extrait est dosé selon la méthode de Sedmak et

Grossberg [16]. Le complexe protéine-colorant présente une absorption caractéristique à 610 nm. Une gamme-étalon préalablement établie avec une solution de sérum albumine SAB (0 à 50 µg) permet de quantifier les protéines solubles exprimées en µg de protéine par mg de matière fraîche.

### Dosage du saccharose

Après centrifugation, les surnageants lipidiques des extraits sont recueillis et les volumes notés. Le dosage du saccharose se fait indirectement par des réactions couplées avec l'hexokinase et la phosphoglucoisomérase, après action d'une invertase commerciale :



On mélange dans un tube Eppendorf 100 µL d'extrait (volume v1), 20 µL d'invertase commerciale Sigma (30 U), 80 µL de tampon acétate de sodium 0,2 M à pH5, soit un volume total de 200 µL mis à incuber dans un bain-marie pendant 15 min à 30 °C. La réaction est arrêtée par ajout de 50 µL de tampon phosphate de potassium 0,5 M à pH7, après quoi on procède à la transformation du glucose et du fructose en glucose 6-P. En présence de glucose 6-phosphatédéshydrogénase (G6PDH), on effectue le suivi de la phos-

phorylation de NADH en NADPH à 340 nm.

Les réactifs sont mélangés directement dans les cuves du spectrophotomètre à raison de 100 µL d'extrait, 10 µL d'ATP (1 mM), 10 µL de NADP (1 mM), 880 µL de tampon TEA pH7,6. Les enzymes Boehringer (hexokinase 4 U, glucose 6-phosphatédéshydrogénase de levure 2 U et phosphoglucoisomérase 2 U) y sont rajoutées et la cinétique d'apparition du NADPH est mesurée en continu à 340 nm jusqu'au plateau (pendant 5 à 6 min). Les résultats bruts, en µmoles de glucose, sont ensuite convertis en µmoles de saccharose par mg de matière fraîche.

### Dosage de l'amidon

Réalisé à partir des culots rincés à l'eau distillée et recentrifugés après décongélation, le dosage de l'amidon est fait selon le même principe que celui du saccharose. L'amidon est d'abord hydrolysé en résidus glucose par une amyloglucosidase (AMG) commerciale (Boehringer) :



On utilise une amyloglucosidase (AMG) Boehringer à pH 4,5-4,8. Cette hydrolyse se fait à 60 °C pendant 30 min. Aux 500 µL

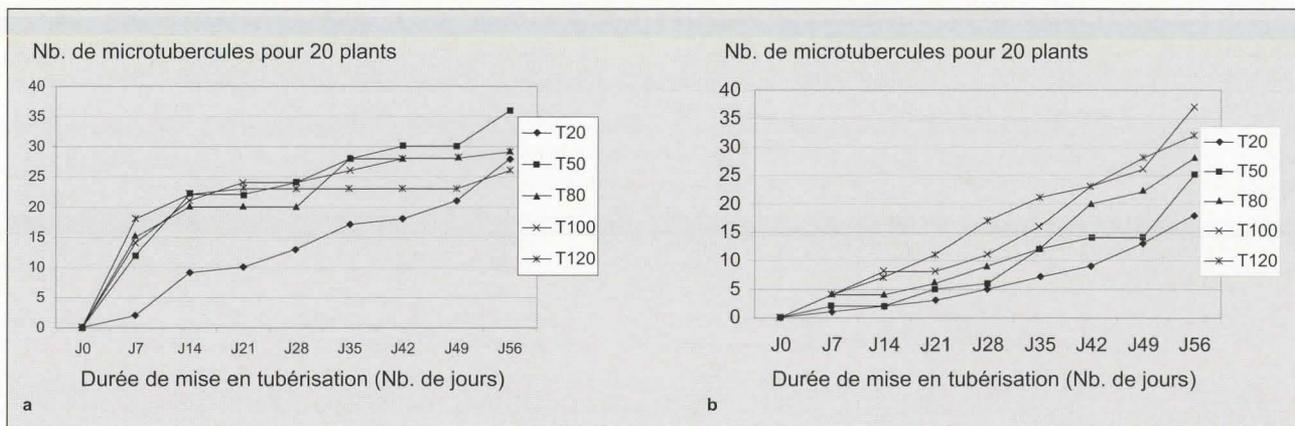


Figure 1. Cinétique de la microtubérisation. a : variété Kennebec ; b : variété Sahel.

Figure 1. Kinetics of microtuberisation. a: Kennebec variety; b: Sahel variety.

d'extrait (v1) sont ajoutés 100  $\mu\text{L}$  d'AMG (10 U) et 400  $\mu\text{L}$  de tampon citrate 50 mM pH 4,8. Le tout est mis à incuber au bain-marie à 60 °C pendant 30 min. Après l'arrêt de la réaction dans la glace, le pH est neutralisé à la soude. Les molécules de glucose sont à leur tour phosphorylées par une hexokinase (HK) (glucose + ATP HK, Glucose-6-phosphate + ADP, puis par la G6PDH de levure (glucose-6-phosphate + NADP (G6PDH) Gluconate 6-phosphate + NADPH).

L'absorbance du NADPH est mesurée à 340 nm. Les résultats bruts, en  $\mu\text{moles}$  de glucose, sont ensuite convertis, à l'aide d'une gamme-étalon (établie à partir d'amidon du commerce), en  $\mu\text{g}$  d'amidon par mg de matière fraîche.

## Résultats

### Microtubérisation sur gamme de saccharose

#### Cinétique

Les courbes d'évolution de la microtubérisation amorcent une phase de plateau à J14 chez Aïda, Atlas, Claustar, Kennebec (figure 1a), et J28 chez Désirée, Pamina, Spunta ; Buck et Sri réagissent plus tardivement. Chez Sahel, les courbes d'évolution n'ont pas de phase en plateau (figure 1b). Nous avons observé beaucoup de repousses (filaments et bourgeons) au niveau des microtubercules, du fait d'une élévation accidentelle de la température entre 25 et 30 °C survenue dans les étuves. Un contact direct avec le milieu liquide favorise également ces repousses.

Des microtubercules d'aspect rond et lisse ont été observés chez Claustar dont tous les plants ont tubérisé dans tous les milieux. Nous avons noté l'apparition, à long terme, de microtubercules arrondis et plus ou moins allongés sur de vieux vitroplants croissant à la lumière sur un milieu d'entretien ordinaire à 2 % de saccharose.

#### Pourcentages de plants tubérisés

Un taux de 100 % est observé pour la variété Claustar sur tous les milieux, suivie de Kennebec et Pamina à partir de T50 (avec un taux de 90 % sur T20 pour Désirée, Kennebec et Pamina). Buck, qui ne tubérise qu'à partir de T80, atteint rapidement le maximum sur T100 et T120. Dans l'ensemble, les taux de tubérisation sont élevés, variant entre 80 et 100 % sur tous les milieux, sauf pour Atlas et Sri.

#### Calibre

Les variétés produisant les meilleures proportions en microtubercules « moyens » et « gros », avec le moins de saccharose sont :  
– Désirée et Kennebec sur T50 (figure 2a) ;  
– Atlas, Claustar et Pamina sur T80 ;  
– Aïda, Sahel (figure 2b) et Spunta sur T100.

#### Rendement

Le rendement (nombre et masse de microtubercules) diffère selon les variétés, certaines (Aïda, Désirée, Claustar) donnent de bons résultats à partir de T50, d'autres (Atlas, Buck, Sahel) exigent des concentrations en saccharose plus élevées (T100) ou même T120 (Spunta, Sri). Le nombre de microtubercules par plant tubérisé varie de 1 à 3. La masse de microtubercules par plant tubérisé aug-

mente avec la concentration de saccharose dans les milieux. Ainsi, pour les variétés les plus performantes, comme Kennebec, Aïda, Claustar, Pamina, Sahel, Buck et Atlas (figure 3a), elle peut passer de 60 à 160 mg en moyenne.

La majorité des variétés de *S. tuberosum* peuvent tubériser, même à faible dose de saccharose [13], et dès la première semaine. Les meilleurs rendements sont obtenus pour 80, 100 et 120  $\text{g.L}^{-1}$  de saccharose, nous avons retenu la concentration à 10 % de saccharose. Il n'y a pas de dormance des microtubercules, la germination se déclenchant dès que la température est supérieure à 25 °C. Le classement des variétés par ordre de performance décroissante est le suivant : Kennebec, Aïda, Sri, Claustar, Sahel, Pamina, Atlas, Désirée, Spunta, Buck (figure 3a).

#### Teneur en protéines solubles totales

Elle est variable selon les génotypes et est corrélée à la quantité de saccharose dans le milieu (figure 4a). Les variétés les plus riches en protéines solubles sur milieu T100 sont Atlas (8,15  $\mu\text{g}$  de protéines par mg de matière fraîche), Sri (7,29  $\mu\text{g}$ ), Sahel (6,76  $\mu\text{g}$ ), Claustar (6,29  $\mu\text{g}$ ), Kennebec (6,21  $\mu\text{g}$ ) (figure 4a).

#### Teneur en saccharose

Elle augmente avec les quantités de saccharose des milieux (figure 4a). Elle est plus élevée chez Sahel (14,7  $\mu\text{g}$  saccharose par mg de matière fraîche), suivie de Kennebec (8,96  $\mu\text{g}$ ), Claustar (7,87  $\mu\text{g}$ ), Aïda (6,55  $\mu\text{g}$ ), Atlas (6,4  $\mu\text{g}$ ). Un taux plus élevé de saccharose dans les microtubercules pourrait refléter une plus grande précocité de la mise en œuvre des modifications métaboliques nécessaires à

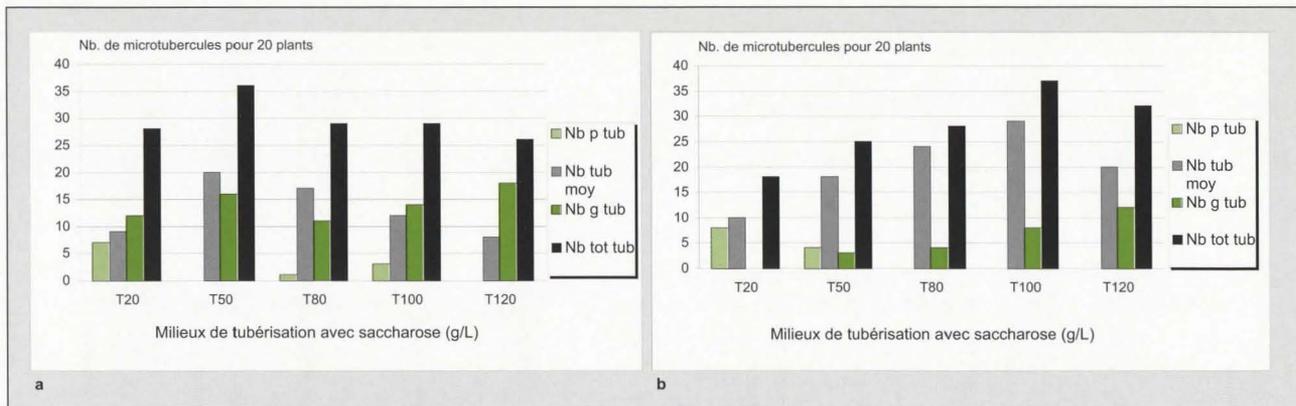


Figure 2. Rendement de la microtubérisation (répartition par calibre). a : variété Kennebec ; b : variété Sahel.

Figure 2. Yield of microtuberisation (Size classification). a: Kennebec variety; b: Sahel variety.

l'induction et à la formation du tubercule à l'extrémité du stolon [14].

### Teneur en amidon

La teneur en amidon augmente avec les concentrations de saccharose des milieux de tubérisation (figure 4a). Elle est plus élevée chez Claustar (1 µg d'amidon par mg de matière fraîche), suivie de Sahel (0,94 µg), Buck (0,89 µg), Kennebec (0,82 µg), Spunta et Sri (0,79 µg), Atlas (0,72 µg), Aïda (0,70 µg) et Désirée (0,61 µg). La teneur en amidon des microtubercules pourrait être un indicateur de l'efficacité de la tubérisation [14].

### Microtubérisation sur gamme de BAP

Nous avons noté la formation de microtubercules dès la première semaine de mise en tubérisation, les variétés les plus

tardives étant Buck et Sri. Les courbes d'évolution de la microtubérisation amorcent une phase de plateau à partir de J28 chez Aïda, Atlas, Claustar, Désirée, Kennebec, Spunta. Chez Pamina et Sahel, il n'y a pas de plateau.

On constate que, dans l'ensemble, les taux de tubérisation, moins élevés que sur la gamme de saccharose, augmentent avec la concentration de BAP. Ils varient entre 80 et 100 % chez Désirée, Kennebec, Pamina et Spunta. Chez Claustar, Sahel et Aïda, ces taux varient entre 70 et 50 %.

La production de microtubercules est généralement liée à la durée de la culture et à la quantité de BAP dans le milieu, sauf chez Aïda et Kennebec. Le nombre de microtubercules par plant tubérisé va de 1 à 5. La masse de microtubercules par plant tubérisé varie entre 50 et 130 mg pour les variétés Kennebec, Spunta, Aïda,

Atlas, Pamina, Désirée et Buck (figure 3b). La faible masse de Spunta sur le milieu T2,5 est accidentelle.

Les proportions les plus importantes de microtubercules moyens (2 à 5 mm de diamètre) et gros (plus de 5 mm de diamètre) sont obtenus pour Kennebec et Pamina sur T0, Aïda sur T2,5, Atlas, Buck, Claustar, Désirée, Sahel et Spunta sur T5.

Les teneurs les plus élevées en protéines solubles totales par mg de matière fraîche ont été relevées chez Atlas (7,88 µg de protéines par mg de matière fraîche), suivie de Sahel (6,74 µg), Spunta (6,05 µg), Claustar (5,96 µg), Buck (5,88 µg), Kennebec (5,80 µg), Aïda (5,45 µg). Les teneurs les plus élevées en saccharose ont été dosées chez Kennebec (9,34 µg de saccharose par mg de matière fraîche), suivie de Sahel (8,77 µg), Claustar (8,42 µg), Aïda (6,66 µg), Atlas (6,54 µg). Les géotypes les plus riches

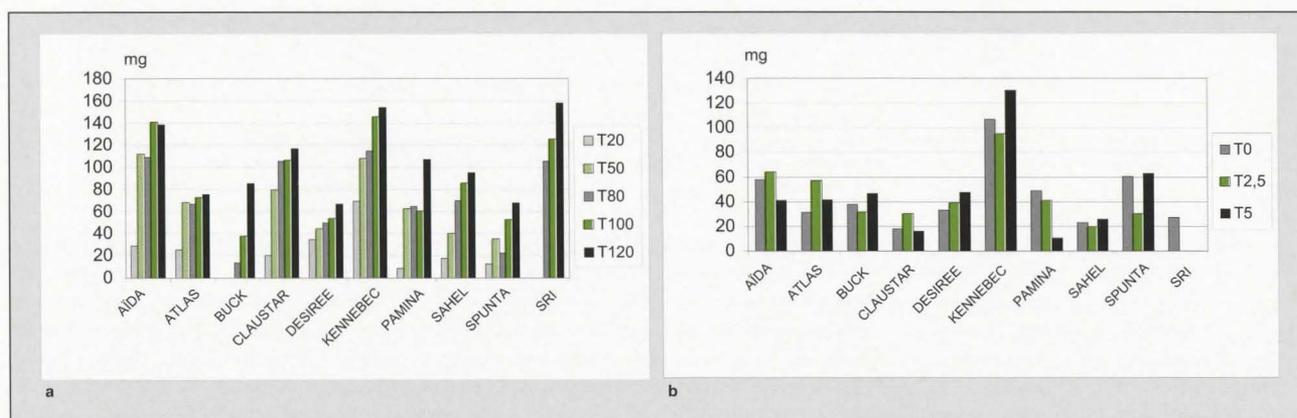
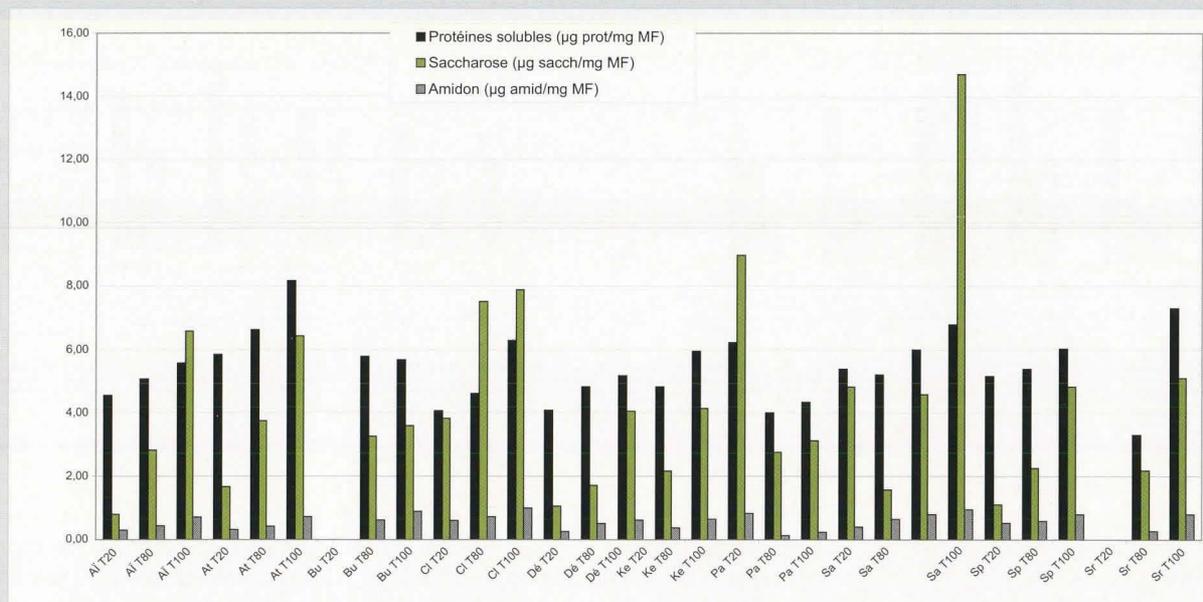
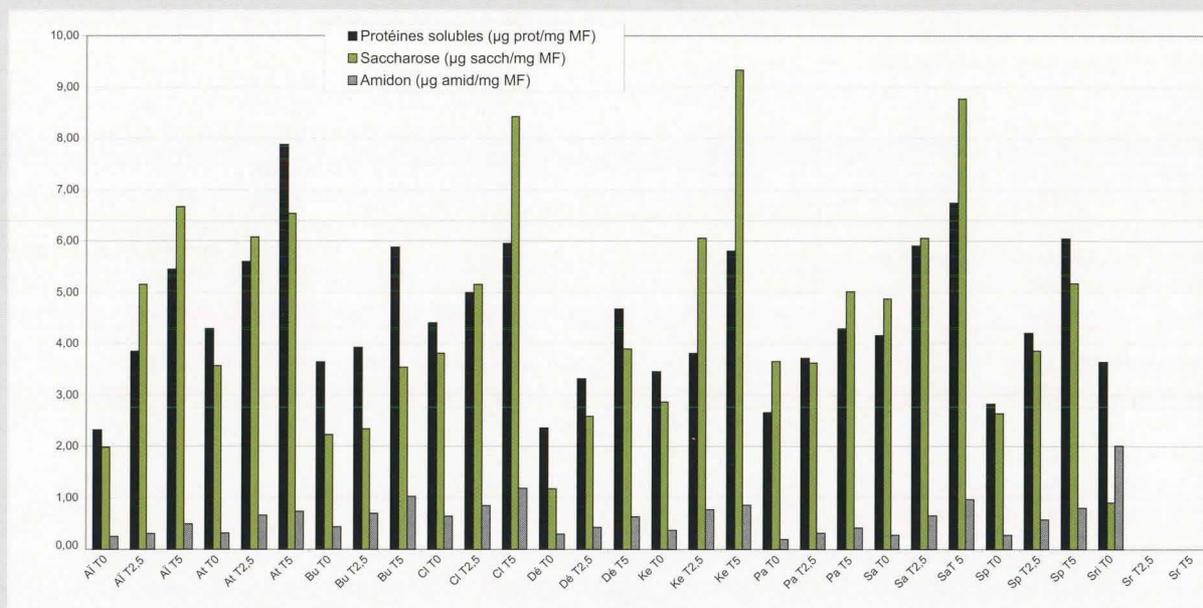


Figure 3. Masse (mg) de microtubercules par plant tubérisé. a : sur gamme saccharose ; b : sur gamme BAP.

Figure 3. Weight (mg) of microtubers per tuberised plant. a: with sucrose; b: with BAP.



a



b

Figure 4. Analyses biochimiques des microtubercules obtenus : a : sur gamme saccharose ; b : sur gamme BAP.

Figure 4. Biochemical analysis of microtubers in media. a: with different concentrations of sucrose; b: with different concentrations of BAP.

en amidon sont Claustar (1,18 µg d'amidon par mg de matière fraîche), Buck (1,03 µg), Sahel (0,97 µg), Kennebec (0,85 µg), Spunta (0,80 µg), Atlas (0,74 µg), Désirée (0,63 µg) (figure 4b). En conclusion, les variétés de *S. tuberosum* peuvent tubériser même sans substance de croissance, dès la première semaine d'induction [11]. Globalement, la masse des microtubercules aug-

mente avec la durée de la culture et concentration de BAP dans le milieu.

Sur le plan des coûts, les milieux de tubérisation les moins riches, notamment T20, T0, donnent les résultats suivants, classés par ordre de performance décroissante (figures 4a et 4b) : les teneurs les plus élevées en protéines solubles totales, variant de 6 à 4 µg (sur T20) et de 4 à 2 µg (sur T0), ont été observées chez Sahel,

Atlas, Désirée, Aïda, Claustar, Kennebec, Spunta ; les teneurs les plus élevées en saccharose, variant de 2 à 1 µg (sur T20) et de 3 à 1 µg (sur T0), ont été observées chez Claustar, Sahel, Kennebec, Atlas, Pamina, Désirée, Aïda, Spunta ; enfin, les teneurs les plus élevées en amidon, variant de 0,6 à 0,3 µg (sur T0), ont été obtenues chez Atlas, Kennebec, Aïda, Désirée, Sahel, Claustar, Atlas, Spunta.

## Conclusion

Le cycle végétatif court et le potentiel de production important de la pomme de terre [17], d'une part, la nécessité d'introduire une diversification des productions, d'autre part [1], font que cette plante peut apporter une amélioration très appréciable au niveau de la sécurité alimentaire des pays sahéliens.

Le développement de la culture de la pomme de terre dans ces pays est soumis à un certain nombre de facteurs limitants, notamment le manque d'approvisionnement en semences de qualité, la gamme réduite de variétés associées liée à une méconnaissance des génotypes plus adaptés, les pressions parasitaires assez importantes, la conservation difficile voire impossible dans certaines régions, et l'absence de filières commerciales structurées [18]. Cette étude concerne principalement les deux premiers aspects.

L'approvisionnement en semences est très aléatoire, et il est souvent en inadéquation avec les dates de mise en cultures impératives, compte tenu des contraintes climatiques. De plus, pour des raisons de difficultés de transport, les tubercules de semences approvisionnés sont de mauvaise qualité. Il est donc raisonnable d'envisager une production locale de tubercules de semences de qualité.

La mise en œuvre de cette production passe d'abord par l'identification des variétés les plus performantes dans les régions sahéliennes. Il est illusoire d'envisager une sélection à court terme. Nous avons donc choisi, en accord avec les producteurs de semences, une gamme de variétés traditionnellement cultivées dans ces régions ou considérées comme étant mieux adaptées aux conditions sahéliennes (tableau I).

Ensuite, la production de semences de qualité doit prendre en compte les contraintes phytosanitaires et économiques locales. Dans plusieurs pays en développement (Cuba, Vietnam, Chine), des méthodes simplifiées de production de semences faisant intervenir la culture *in vitro*, notamment la microtubérisation, se sont montrées suffisamment performantes pour satisfaire la demande [19].

Les travaux que nous avons réalisés montrent que, sur la gamme de variétés retenues, la microtubérisation, la production de minitubercules et leur utilisation pour la production de tubercules de semence sont réalisables [20]. Dans un but de prospection plus large parmi les variétés dis-

ponibles, nous avons essayé également d'identifier des critères permettant un criblage préliminaire des capacités de production de semences mieux adaptées aux conditions sahéliennes [21]. La caractérisation des microtubercules au niveau biochimique pourrait être également un indicateur de leur qualité physiologique. Les premiers résultats obtenus ont mis en évidence des différences variétales, mais en l'état actuel, l'existence de corrélation entre ces différences et l'aptitude à la production de minitubercules ou de semences de qualité reste à confirmer.

Sur la base de ces travaux préliminaires, il reste à établir un protocole de production de tubercules de semences prenant en compte les contraintes sahéliennes. Il semble nécessaire de réduire la phase *in vitro*, relativement coûteuse en installation et en consommables, et très sensible aux infections au profit de la production de microtubercules puis de minitubercules plus faciles à manipuler et à gérer dans le temps. De plus, il existe de réelles possibilités dans certaines régions du Sahel de produire, à la demande, des tubercules de semence de qualité [1].

À titre d'exemple de schéma de production, on peut envisager à partir de vitroplants indexés venus d'Europe une multiplication *in vitro* limitée dans le temps (3 à 4 mois) pour le matériel de base nécessaire à la microtubérisation (2 mois). À partir de ces microtubercules, on peut, dans des conditions locales (sable sous ombrage), obtenir en 2 mois des minitubercules qui pourraient être conservés et gérés à la demande pour la production. Sur cette base, on peut envisager des simplifications : des essais conduits en Chine ont, par exemple, permis de produire, dans un substrat simple constitué de sable sous un tunnel en plastique, des minitubercules directement à partir de boutures issues de vitroplants (Ducreux, comm. pers.) ■

## Remerciements

Cette étude a été possible grâce à la collaboration du comité Nord de Beaurains, de l'Inra de Rennes et de Ploudaniel, de SOC (Sciences Outils Charrues) International, du laboratoire de morphogenèse végétale expérimentale de l'université Paris XI d'Orsay, de Bretagne Plants dont la contribution financière a permis de mener à bien les analyses biochimiques.

## Références

1. Jouan B, Riquier X, Vanderhofst dat B. Mali, Burkina Faso et Niger : projet de développement de la pomme de terre. *La Pomme de Terre Française* 1999 ; 511 : 52-6.
2. Ducreux G. Propos sur la tubérisation. *Acta bot Gallica* 1995 ; 142 : 285-8.
3. Seabrook JEA, Coleman S, Levy D. Effect of photoperiod on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 1993 ; 34 : 43-51
4. Belletti P, Lanter S, Lotito, Saracco F. Production of potato micro-tubers through *in vitro* culture. *Acta Horticulturae 362 Seed Research in Horticulture* 1994 ; V : 141-9.
5. Charles G, Rossignol L, Rossignol M. Mise au point d'un modèle de développement et de tubérisation contrôlés et synchrones chez la Pomme de terre cultivée *in vitro*. *Acta bot Gallica* 1995 ; 142 : 289-300.
6. Blanc A, Rossignol L, Rossignol M, Ambroise A. Changements d'activités métaboliques et induction de la tubérisation *in vitro* chez la pomme de terre. *Acta bot Gallica* 1995 ; 142 : 311-20.
7. Palmer CE, Smith OE. Effect of kinetin on tuber formation on isolated stolons of *Solanum tuberosum* L. cultured *in vitro*. *Plant & Cell Physiol* 1970 ; 11 : 303-14.
8. Ellissèche D. Aspects physiologiques de la croissance et du développement. In ; Rouselle et al. *La Pomme de terre*. Paris : Éditions Inra, 1996 : 71-121.
9. Harvey BMR, Crothers SH, Watson S, Lee HC. Heat inhibition of tuber development in potato (*Solanum tuberosum* L.) : effects on microtuber formation *in vitro*. *Potato Res* 1992 ; 35 : 183-90.
10. Jackson SD. Multiple signaling pathways control tuber induction in Potato. *Plant Physiol* 1999 ; 119 : 1-8.
11. Garner N, Blake J. The induction and development of potato microtubers *in vitro* on media free of growth regulating substances. *Ann Botany* 1989 ; 63 : 663-74.
12. Bänfalvi Z, Molnár A, Lakatos L, Hesse H, Höfgen R. Differences in sucrose-to-starch metabolism of *Solanum tuberosum* and *Solanum brevifolium*. *Plant Sci* 1999 ; 147 : 81-8.
13. Ewing EE. The role of hormones in potato (*Solanum tuberosum* L.) tuberization. In : Davies PJ, ed. *Plant Hormones*. Dordrecht (Netherlands) : Ed. Kluwer Academic publishers, 1995 : 698-724.
14. Xu X, van Lammeren AAM, Vermeer E, Vreugdenhil D. The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. *Plant Physiol* 1998 ; 117 : 575-84.
15. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 1962 ; 15 : 473-97.
16. Sedmak JJ, Grossberg SE. A rapid sensitive and versatile assay for protein using coomassie brilliant blue G 250. *Analytical Biochem* 1977 ; 79 : 544-52.
17. Rouselle P, Robert Y, Crosnier JC. *La pomme de terre*. Paris : Éditions Inra, 1996 ; 607 p.

18. Jouan B, Gillery E, Autret JD. *Proposition pour l'organisation et le développement de la pomme de terre au Niger. Compte Rendu de mission*. S.I: Ministère des Affaires étrangères/ministère d'Agriculture/service de Coop et Act culturelles au Niger, 2001 ; 75 p.

19. Nozeran R, Bancilhon-Rossignol L, Grenan S. Nouvelles possibilités d'obtention et de

multiplication rapide de clones sains de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *C.R. Acad Sci* (Paris) 1975 ; 285 série D : 37-40.

20. Sidikou R. *Contribution des biotechnologies végétales à l'adaptation de la pomme de terre (Solanum tuberosum L.) au Niger*. Thèse Doct d'État, université Moumouni Niamey (Niger), 2002 ; 357 p.

21. Sidikou R, Ellisèche D, Sihachakr D, Jouan B, Ducreux G. Conséquences du stress hybride chez huit cultivars de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Bot Gallica* 2002 ; 149 : 139-48.