

**Contribution à l'évaluation et à la caractérisation de
variétés de pommes de terre (*Solanum sp.*) des
régions semi-arides des Andes boliviennes**

DELPHINE JAUNARD

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2009-2010

PROMOTEUR : Professeur J.P. BAUDOIN

Contribution à l'évaluation et à la caractérisation de variétés de pommes de terre (*Solanum sp.*) des régions semi-arides des Andes boliviennes

DELPHINE JAUNARD

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2009-2010

PROMOTEUR : Professeur J.P. BAUDOIN

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech. Le présent document n'engage que son auteur.

RÉSUMÉ

La région andine est considérée comme un des plus grands centres mondiaux de biodiversité et un centre majeur de domestication, notamment, de la pomme de terre (*Solanum sp.*). Cette plante constitue actuellement l'une des productions les plus importantes de l'économie et de l'alimentation bolivienne. La pomme de terre représente un des moyens de subsistance principaux des agriculteurs boliviens qui en cultivent de nombreuses variétés indigènes. Mais les changements climatiques récents menacent cette culture. Des épisodes de grêle, gel, pluies et sécheresse plus intenses et plus fréquents qu'auparavant ont été rapportés par les agriculteurs de deux régions de l'Altiplano bolivien (Llallagua et Cariquina Grande). Ces cultivateurs de pommes terre ont été interrogés dans le cadre de ce travail. Ils souhaitent prendre des mesures d'adaptation face aux changements climatiques. L'une de ces mesures est la mise en évidence et l'amélioration de variétés de pommes de terre tolérantes à certains facteurs abiotiques et notamment la sécheresse.

Ce travail, réalisé en collaboration avec la fondation PROINPA (Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos), a pu dégager, parmi un ensemble d'accessions de pommes de terre issues de la banque nationale de tubercules et racines de Bolivie, des accessions tolérantes ou sensibles à la sécheresse.

La méthode d'extraction d'ADN « FTA » (papier Whatman) a également été testée avec peu de succès comparée à la méthode CTAB utilisée couramment. L'ADN obtenu à l'aide de ces méthodes d'extraction pourrait, par la suite, faire l'objet d'analyses moléculaires dans le cadre de sélection assistée par marqueurs moléculaires associés à certains facteurs abiotiques.

ABSTRACT

The Andean area is regarded as one of the greatest world centers of biodiversity and a major center of domestication, especially, the potato (*Solanum sp.*). Nowadays, this plant constitutes one of the most important productions of the economy and the Bolivian food. The potato represents one of the principal means of subsistence for the Bolivian farmers who cultivate many indigenous varieties of them. But the recent climate changes threaten this culture. Episodes of hail, freezing, rains and drought more intense and more frequent than before were reported by the farmers of two areas of Bolivian Altiplano (Llallagua and Cariquina Grande). These farmers were questioned within the framework of this work. They wish to take measures of adaptation to face up the climate changes. One of these measures is the identification and the improvement of tolerant varieties of potatoes to some abiotic factors and the drought in particular.

This work, made in collaboration with PROINPA foundation (Fundación para Promoción e Investigación de Productos Andinos), has highlighted, among accessions of potatoes from the national bank from tubers and roots of Bolivia, accessions tolerant or sensitive to the drought.

The method for the extraction of the DNA "FTA" (Whatman paper) was also tested with little success and was compared with the CTAB method usually used. Thereafter, the DNA obtained with these methods of extraction could be used in molecular tests in marker assisted selection with molecular markers associated with abiotic factors.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin à sa réalisation de par leur aide, leurs conseils ou leur soutien.

Je voudrais tout d'abord remercier mon promoteur, M. Jean-Pierre Baudoin, de m'avoir proposé ce TFE et permis de rencontrer les personnes de contacts indispensables à sa réalisation ainsi que de m'avoir encadrée, conseillée et relue tout au long de ce travail.

Je tiens également à remercier Mme. Marie Malice pour le temps qu'elle m'a consacré, pour sa disponibilité, ses remarques instructives, ses conseils avisés, ses lectures et relectures, sa patience et ses encouragements. Travailler avec elle fut très enrichissant.

Merci à M. Patrick du Jardin de m'avoir aiguillée lors de la mise en place de mon expérimentation sur place.

Je remercie l'ensemble des membres du Jury d'avoir pris le temps de prendre connaissance de mon travail : M. Bernard Bodson, M. Jean-Pierre Baudoin, Mme. Marie Malice, M. Jorge Rojas, M. Guy Mergeai et M. Patrick du Jardin.

Merci au Docteur Jorge Rojas de m'avoir accueillie dans son service, pour son encadrement, sa disponibilité et sa patience. Merci de m'avoir permis d'apprendre cette si belle langue qu'est l'espagnol, de m'avoir fait découvrir ce magnifique pays, la Bolivie, et d'avoir veillé sur moi tout au long de mon séjour.

Gracias para todas las imágenes y los recuerdos que he traído conmigo de Bolivia. Fue un protector para nosotros.

Je remercie sincèrement le personnel de PROINPA de m'avoir intégrée, accueillie, encadrée et aidée ainsi que d'avoir mis à ma disposition son matériel. Merci de m'avoir fait profiter de son merveilleux carnaval. Merci à M. Cadima, à Gabriela, Fidel, Silene, Anita, Andrea, Ariel, Christian, Lucia, Kathy, Abel, Jenny...

Gracias Fidel para tu ayuda preciosa y tus consejos.

Gracias Gabriela para las numerosas cosas aprendidas en laboratorio.

Gracias Silene para tu suavidad y tu paciencia.

Gracias Anita para tus consejos y tu amistad.

Gracias Andrea para tu buen humor y tu sonrisa.

Gracias Ariel de consagrarnos tanto tiempo y haber hecho descubrir muchas cosas.

Gracias Lucia et Kathy para vuestra ayuda y vuestra dedicación.

Gracias Jenny, Christian y Abel para vuestra amabilidad.

Je remercie M. Willman Garcia pour sa grande contribution à l'élaboration du questionnaire soumis aux agriculteurs.

Je remercie M. Victor Iriarte pour l'aide qu'il m'a apportée lors de l'élaboration des questionnaires et mon voyage à Llallagua.

J'adresse également mes remerciements à M. Bruno Condori pour le temps qu'il m'a consacré, ainsi que son équipe. Ils m'ont tous beaucoup aidée lors de mon voyage à Cariquina Grande (et mon espagnol a grandement progressé). Merci à Lupe, Eliseo, Juanita, Juan...

Je voudrais également remercier les agriculteurs d'avoir accepté de répondre à mes questions et de m'avoir si chaleureusement accueillie.

Merci à M. Brostaux et M. Ferrandis pour les conseils statistiques qu'ils ont pris le temps de me donner.

Je tiens tout particulièrement à remercier M. Guion pour ses relectures, ses conseils et corrections. C'est très aimable de sa part de s'être intéressé à mon travail et d'y avoir consacré du temps.

Le voyage réalisé dans le cadre du présent travail a été rendu possible grâce à l'intervention financière du Conseil interuniversitaire de la Communauté française de Belgique - Commission universitaire pour le Développement - Rue de Namur, 72-74, 1000 Bruxelles - www.cud.be.

Merci à Marjolaine et Maud, mes compagnes de voyage, d'avoir toujours été à l'écoute.

À titre personnel, je voudrais aussi remercier ma famille : Papa, Maman, Virginie, Mamy Gigi et Mamy Maria, je les remercie d'être toujours là pour moi. Merci de m'avoir soutenue à tous les points de vue durant ces 5 années d'études mais aussi depuis ma naissance, et d'avoir encore et toujours confiance en moi.

Merci à Micha d'être à mes côtés, d'apaiser mes doutes et de me donner confiance en moi.

Merci à Martine et Bernard de me permettre de faire partie de leur famille et de l'intérêt qu'ils me portent.

Merci à mes cokoteurs et amis, Hélène, Thomas et Tanguy de m'avoir supportée durant ces trois années ;-) et d'être toujours présents pour moi. La vie avec eux va beaucoup me manquer.

Un grand merci à Jérôme et William pour leur courrier hebdomadaire et tous les moments extraordinaires passés ensemble : ce sont des amis en or.

Merci à Eléonore, ma petite rousse préférée, d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours tirée vers le haut. Son aide m'a été précieuse (et pas seulement quand il s'agissait de statistiques).

Une pensée pour Papy Léon, Julien et Sylvie : où qu'ils soient, ils m'apportent la force qui me manque dans mes moments de faiblesse...

Enfin merci à tous ceux qui ont croisé, un jour au l'autre, ma route à Gembloux ou que je côtoie régulièrement, ils ont rendu ces études bien agréables.

TABLE DES MATIÈRES

Liste des abréviations	i
Liste des figures.....	iii
Liste des tableaux	vi
I Introduction générale.....	1
II Revue Bibliographique.....	3
1 Les Andes, centre de Biodiversité	3
2 La Bolivie	4
2.1 Généralités.....	4
2.2 Situation socio-économique et politique	4
2.3 Géographie et Climat.....	5
2.4 Les vallées semi-tropicales.....	5
2.5 Les plaines orientales	6
2.6 L'Altiplano	6
2.7 L'Altiplano et l'agriculture.....	6
2.8 Région Nord Potosi et Oruro - LLallagua	7
2.9 Nord de l'Altiplano, La Paz – Cariquina Grande	8
2.10 Bioindicateurs naturels de l'Altiplano.....	8
3 La pomme de terre.....	10
3.1 Introduction	10
3.2 Origine et taxonomie	10
3.3 Description botanique et morphologique	12
3.4 Physiologie	13
3.5 La pomme de terre dans les Andes.....	14
3.6 La pomme de terre en Bolivie	14
4 Réactions des plantes aux stress hydrique et thermique.....	15
5 Le changement climatique.....	16
6 Le changement climatique dans les Andes et l'Altiplano	17

III	Matériel et méthodes	20
1	Introduction	20
2	Enquêtes chez les agriculteurs de deux régions de l'Altiplano bolivien	20
2.1	Zones d'étude	20
2.2	Élaboration du questionnaire	22
2.3	Interviews	22
2.4	Traitement des données	23
3	Évaluation d'accessions de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse	23
3.1	Site expérimental	23
3.2	Matériel végétal et mise en place du dispositif.....	24
3.3	Evaluation des plantes	25
3.4	Traitement des résultats	29
4	Mise au point et test d'une nouvelle méthode d'extraction de l'ADN et comparaison avec la méthode CTAB	30
4.1	Laboratoires en Bolivie	30
4.1.1	Matériel végétal	30
4.1.2	Récolte du matériel végétal	30
4.1.3	Extraction de l'ADN.....	31
4.1.3.1	Méthode du bromure d'hexadecyltriméthylamini-um (CTAB).....	31
4.1.3.2	Méthode FTA	32
4.1.4	Quantification de l'ADN	34
4.1.5	Amplification par PCR.....	35
4.1.5.1	Marqueurs moléculaires	35
4.1.5.2	Amplification dans un volume réactionnel de 15 µl.....	36
4.1.5.3	Amplification dans un volume réactionnel de 25 µl.....	38
4.1.6	Électrophorèse et lecture	39
4.1.7	Tests effectués	39
4.2	Laboratoires en Belgique.....	40

4.2.1	Matériel végétal.....	40
4.2.2	Extraction de l'ADN.....	40
4.2.2.1	Méthode CTAB	40
4.2.2.2	Méthode FTA	41
4.2.3	Quantification de l'ADN	41
4.2.4	Amplification par PCR.....	42
4.2.4.1	Microsatellites	42
4.2.4.2	Amplification dans un volume réactionnel de 25 µl.....	42
4.2.4.3	Amplification dans un volume réactionnel de 50 µl.....	43
4.2.5	Électrophorèse et lecture	44
4.3	Comparaison des méthodes d'extraction CTAB et FTA.....	45
5	Principaux biais et difficultés rencontrés	46
IV	Résultats et discussions	47
1	Enquêtes chez les agriculteurs de deux régions de l'Altiplano bolivien	47
1.1	Introduction	47
1.2	Données climatiques de Llallagua.....	47
1.3	Llallaqua : Thèmes et questions générales abordés.....	48
1.4	Cariquina Grande : Thèmes et questions générales abordés	50
1.5	Perception générale	52
2	Évaluation d'accessions de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse	53
2.1	Analyse de la variance et structuration des moyennes	53
2.1.1	Observations concernant l'échelle I	53
2.1.2	Observations concernant l'échelle II	57
2.1.3	Observations concernant le poids.....	59
2.2	Analyse des correspondances multiples et analyse en composantes principales.....	61
2.3	Évaluation d'accessions de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse : conclusions	62
3	Mise au point et test d'une nouvelle méthode d'extraction de l'ADN et comparaison avec la méthode CTAB	63

3.1	Laboratoires en Bolivie	63
3.1.1	Quantification de l'ADN extrait par la méthode CTAB.....	63
3.1.2	Amplifications	64
3.2	Laboratoires en Belgique.....	67
3.3	Comparaison des méthodes d'extraction CTAB et FTA.....	68
3.3.1	Comparaison économique	68
3.3.2	Matériel utilisé.....	69
3.3.3	Avantages et inconvénients de chaque méthode	70
3.4	Mise au point et test d'une nouvelle méthode d'extraction de l'ADN et comparaison avec la méthode CTAB : conclusions.....	71
V	Conclusions générales	73
VI	Perspectives	75
VII	Références bibliographiques	77
VIII	Annexes.....	82

LISTE DES ABRÉVIATIONS

%	Pour cent
'	Minute
''	Seconde
[]	Concentration
µl	Microlitre
A	Adénine
ACM	Analyse en correspondances multiples
ACP	Analyse en composantes principales
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFLP	Amplification Fragment Length Polymorphism
bg t	Bourgeon terminal
C	Cytosine
°C	Degré Celsius
C+	Contrôle positif
C-	Contrôle négatif
CIP	Centre international de la pomme de terre, Lima, Pérou
cm	Centimètre
CNG	Contrôle négatif général
CPG	Contrôle positif général
CUD	Commission universitaire pour le Développement
DNase	Désoxyribonucléase
éch.	Échantillon
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
g	Gramme
G	Guanine
GIEC	Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat
ha	Hectare
IFAD	International Fund for Agricultural Development
IIED	International Institute for Environment and Development
kg	Kilogramme
km ²	Kilomètre carré
l	Litre
M.	Monsieur
M	Molaire
m	Mètre
m ²	Mètre carré
MAS	Marker-Assisted Selection
mg	Milligramme
ml	Millilitre
mm	Millimètre
mM	Millimolaire
ng	Nanogramme

oe	Yeux
pb	Paire de base
PCR	Polymérase Chain Reaction, réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN
pH	Pouvoir hydrogène
PIB	Produit intérieur brut
pmol	Picomole
PNUD	Programme des Nations Unies pour le Développement
PROINPA	Fundación para la Promoción e Investigación de Productos Andinos
PVP	Polivinilpirrolidone
PVY	Potato Virus Y
RAPD	Random Amplified Polymorphism DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNase	Ribonucléase
SCARs	Sequence-characterized amplified regions
sp	Espèce
ssp	Sous-espèce
SSR	Simple Sequence Repeat
St	Stolon
TBE	Tris-borate-EDTA
T	Thymine
UV	Ultra Violet
V	Volt
Vol	Volume

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Carte Politique de la Bolivie (Source: Lamina Educativa, non daté).....	3'
Figure 2: Profil géographique de la Bolivie (Source: Lamina Educativa, non daté).....	4'
Figure 3: Carte Physique de la Bolivie (Source; Lamina Educativa, non daté)	4'
Figure 4: Oiseau Liqi-Liqi (Source: B. Knapton, 2003).....	9
Figure 5: Origine des espèces cultivées de pommes de terre (<i>Solanum</i> sp.) (d'après Hawkes, 1990)..	11
Figure 6: Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre (Source: Soltner, 2005)	11'
Figure 7: Structure externe d'un tubercule de pomme de terre (Source: Rouselle, 1996)	13
Figure 8: Schéma du cycle végétatif de la pomme de terre. (Source: Rouselle, 1996)	12'
Figure 9: Retrait du glacier Chacaltaya (Source: Edson Ramirez, 2009).....	18
Figure 10: Carte montrant la localisation des 2 communautés où ont été interrogés les agriculteurs..	21
Figure 11: Nombre de variétés par communautés et par groupe variétal (de l'Altiplano Nord- La Paz) (Source: Iriarte et al, 2009).....	21
Figure 12: Serre appartenant à la Fondation PROINPA dans laquelle a été réalisée l'expérimentation (Cochabamba, 2010)	23
Figure 13: Substrat et pots utilisés pour la plantation des tubercules. (Photo de M. Fidel Cortez, Décembre 2009)	24
Figure 14: Disposition des pots en serre (Photo de M. Fidel Cortez, Décembre 2009)	25
Figure 15: Plan du dispositif expérimental pour l'évaluation de 154 accessions pour leur tolérance à la sécheresse (Source : Jaunard D., 2010)	24'
Figure 16: Echelle I d'évaluation de l'état général et du feuillage de la plante, cotation de 1 à 5 (Tableau 1) (Cochabamba, 2010).....	27
Figure 17: Echelle II d'évaluation du dessèchement des tiges, cotation de A à B (Tableau 2) (Cochabamba, 2010)	28
Figure 18: (gauche) Balance Dynamométrique Escalis (Max: 20 kg, précision 5kg), (droite) Système employé pour la pesée. (Cochabamba, 2010).....	28
Figure 19: Cartes Classiques FTA - Papier Whatman.....	32
Figure 20: Mise sur papier Whatman du matériel végétal.....	32
Figure 21: Punchs Harris Uni-Core 2mm (noir) et 1, 2mm (rouge) et tablette de découpe	33

Figure 22: Carte FTA dans laquelle ont été découpés des disques.....	33
Figure 23: Marqueur de poids moléculaire de la société Eurogentec.....	35
Figure 24: Graphique de l'évolution annuelle de la température moyenne mensuelle pour la station de Llallagua (2002-2009).....	46'
Figure 25: Graphique de l'évolution annuelle des précipitations mensuelles pour la station de Llallagua (2002-2009).....	46'
Figure 26: Evolution de la moyenne générale pour l'échelle I au cours du temps (11 évaluations)....	54
Figure 27: Moyennes de l'échelle I sur 11 évaluations pour 154 accessions.....	55
Figure 28: Evolution des moyennes pour l'échelle I des accessions 139 et 65 au cours des 11 évaluations.....	56
Figure 29: Evolution des moyennes pour l'échelle I des accessions 25 et 60 au cours des 11 évaluations.....	56
Figure 30: Evolution des moyennes pour l'échelle I des accessions 134 et 47 au cours des 11 évaluations.....	56
Figure 31: Evolution de la moyenne générale pour l'échelle II au cours du temps (3 évaluations).....	58
Figure 32: Moyennes de l'échelle II sur 3 évaluations pour 154 accessions	58
Figure 33 : Evolution des moyennes pour l'échelle II des accessions 86 et 147 au cours des 3 évaluations (9, 10, 11)	59
Figure 34: Evolution de la moyenne générale pour le poids au cours du temps (7 évaluations).....	60
Figure 35: Moyennes de poids sur 7 évaluations pour 154 accessions	61
Figure 36: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium de 20 échantillons d'ADN extraits par CTAB à partir de feuilles d'accessions de pommes de terre. ...	63
Figure 37: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium de 12 échantillons d'ADN extraits par CTAB à partir de feuilles d'accessions de pommes de terre....	64
Figure 38: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium des produits d'amplification de la PCR du 9 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par CTAB..	64
Figure 39: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium d'une partie des produits d'amplification de la PCR du 12 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par FTA, disques lavés à l'eau et au tampon TE.	65
Figure 40: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium d'une partie des produits d'amplification de la PCR du 12 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et	

STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par FTA, disques lavés à l'eau, l'éthanol et au tampon TE. 65

Figure 41: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium des produits d'amplification de la PCR du 15 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par les méthodes FTA et CTAB. . 66

Figure 42: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium des produits d'amplification de la PCR du 23 avril 2010 pour les marqueurs HC et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par les méthodes FTA et CTAB.. 67

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Echelle de cotation I pour l'évaluation des accessions pour leur tolérance à la sécheresse.	25
Tableau 2: Echelle de cotation II pour l'évaluation des accessions pour leur tolérance à la sécheresse	27
Tableau 3: Calendrier des activités de l'expérimentation concernant l'évaluation de 154 accessions de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse	29
Tableau 4: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 15 µl).....	37
Tableau 5: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 15 µl).....	37
Tableau 6: Température d'hybridation et durée d'hybridation pour les amorces utilisées.....	38
Tableau 7: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 25 µl).....	39
Tableau 8: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 25 µl).....	39
Tableau 9: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons FTA)	42
Tableau 10: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons FTA)	42
Tableau 11: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons CTAB)	43
Tableau 12: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons CTAB)	43
Tableau 13: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 µl et les échantillons FTA)	43
Tableau 14: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 µl et les échantillons FTA)	44
Tableau 15: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 µl et les échantillons CTAB)	44
Tableau 16: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 µl et les échantillons CTAB)	44
Tableau 17 : Résultats de l'analyse de la variance pour l'échelle I.....	53

Tableau 18: Résultats de l'analyse de la variance pour l'échelle II.....	57
Tableau 19: Résultats de l'analyse de la variance pour le poids.....	60
Tableau 20: Prix d'extraction d'un échantillon d'ADN par la méthode FTA.....	68
Tableau 21: Prix d'extraction d'un échantillon d'ADN par la méthode CTAB	69
Tableau 22: Matériel utilisé pour l'extraction d'ADN par la méthode CTAB et par la méthode FTA.	69
Tableau 23: Avantages et inconvénients des méthodes FTA et CTAB sur le terrain et en laboratoires	71

I INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le réchauffement climatique est un sujet d'actualité. Le rapport d'évaluation du groupe d'experts intergouvernemental (GIEC) de 2007, pointe du doigt certains éléments inquiétants : la température de la planète augmente, les glaciers fondent, le niveau de la mer s'élève... Il est clair que notre climat subit des modifications. Les catastrophes naturelles qui touchent les différents pays et continents de la planète ces derniers mois tendent à la prouver. La sécheresse en Russie, les inondations en France, au Pakistan ou en Chine, sont des événements climatiques qui surviennent de plus en plus fréquemment et qui frappent l'ensemble du globe.

Le continent sud-américain n'est pas en reste et les Andes sont de plus en plus touchées par des catastrophes naturelles. Durant l'été 2010, le Pérou fut victime d'inondations dévastatrices et actuellement, une vague de froid intense sévit sur la Bolivie.

Ces événements climatiques menacent les agriculteurs des Andes boliviennes. En effet, leur moyen de subsistance principal, c'est-à-dire l'agriculture et notamment la pomme de terre qui constitue la principale culture vivrière de la Bolivie, dépend directement du climat. Ces peuples sont donc très vulnérables face au changement climatique.

Le meilleur moyen de lutte contre les impacts néfastes du réchauffement climatique que possèdent ces agriculteurs est l'adaptation, c'est-à-dire la mise en place d'actions permettant de contourner les effets néfastes du changement climatique.

L'incroyable diversité d'espèces que l'on trouve dans la région andine est un atout majeur à l'adaptation. Les Andes boliviennes sont le berceau de la pomme de terre et la mise en évidence de variétés de pommes de terre tolérantes à la sécheresse ou au gel aiderait les agriculteurs à faire face à ces modifications climatiques de plus en plus fréquentes.

La fondation PROINPA (Promoción e Investigación de Productos Andinos), établie en Bolivie, a notamment pour mission de contribuer à la souveraineté et à la sécurité alimentaire. Elle travaille avec les agriculteurs des vallées interandines et de l'Altiplano de manière participative afin de répondre à leurs besoins et demande d'innovation. À travers le projet « Fontagro », PROINPA souhaite « utiliser la diversité génétique de la pomme de terre pour mettre en œuvre l'adaptation au changement climatique ».

Ce travail de fin d'études tente de concourir à ce projet en apportant une contribution à l'évaluation et à la caractérisation de variétés de pommes de terre indigènes des régions semi-arides des Andes boliviennes tolérantes à la sécheresse. Ce mémoire a été réalisé en collaboration avec la fondation PROINPA (plus spécialement, le service de biologie moléculaire et bioinformatique basé à Cochabamba et géré par le Docteur Rojas¹) et l'Unité de Phytotechnie Tropicale et Horticulture de Gembloux Agro Bio Tec.

¹ Docteur Jorge A. Rojas-Beltran, Ph. D. Docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique. Responsable du laboratoire de Biologie Moléculaire, Fondation PROINPA, Cochabamba-Bolivie

CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE

Plus particulièrement, le premier objectif spécifique de ce travail était de connaître la perception générale qu'ont les agriculteurs boliviens du changement climatique et la manière dont ces changements touchent la culture de la pomme de terre.

Un autre objectif spécifique était l'évaluation en serre de 154 accessions de pommes de terre appartenant à la banque nationale de tubercules et racines de Bolivie pour leur résistance au stress hydrique.

Enfin, afin de pouvoir caractériser de manière moléculaire les variétés de pommes de terre d'intérêt, une nouvelle méthode d'extraction de l'ADN de pommes de terre (FTA, papier Whatman), plus économique, a été testée et comparée à la méthode d'extraction CTAB. Une comparaison qualitative ainsi qu'une comparaison économique des deux méthodes ont également été réalisées.

La première partie de ce travail est consacrée à la « revue bibliographie » et nous permet de nous situer dans le contexte, c'est-à-dire les Andes et la Bolivie. Elle nous fournit, aussi, une description taxonomique, morphologique et physiologique de la pomme de terre et met en évidence son importance en Bolivie. Le thème de la réaction des plantes aux stress hydrique et thermique est également abordé. Cette partie développe aussi le sujet du changement climatique.

La deuxième partie du travail développe le matériel et les méthodes mises en œuvre pour répondre aux objectifs cités ci-dessus ainsi que les résultats obtenus. Nous terminons ce travail par des conclusions et perspectives.

II REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1 LES ANDES, CENTRE DE BIODIVERSITÉ

Les civilisations andines passées étaient déjà conscientes que l'agriculture représentait une source de nourriture et assurait une certaine stabilité. Elles avaient déjà mis en place une forme d'agriculture très organisée et l'amélioraient continuellement. En effet, les civilisations préhispaniques avaient déjà domestiqué un grand nombre d'espèces. Au 16^{ème} siècle, le botaniste O. F. Cook qui faisait partie de l'expédition scientifique ayant découvert les ruines du Machu Pichu, déclarait qu'il existait plus d'espèces domestiquées de plantes dans les Andes qu'en Asie ou en Amérique (HERNANDEZ BERMEJO et al, 1992).

Cette diversité s'explique en partie par les contrastes géographiques, climatiques et écologiques très marqués de la région andine mais également par un ensemble de stratégies qui ont permis aux agriculteurs de maintenir une variabilité biologique importante. Il s'agit par exemple de l'adaptation de la gestion des cultures face aux risques climatiques régulièrement rencontrés dans les montagnes ou de l'échange de graines et de matériel génétique sur de grandes étendues. Chaque communauté de paysans habitant une région particulière tente de préserver leur savoir traditionnel et leurs connaissances ancestrales afin de limiter les pertes d'espèces. Elles utilisent des indicateurs biologiques pour prévoir le temps, mettent en place une rotation de cultures ou des cultures associées, s'adaptent aux conditions du relief... autant d'éléments qui permettent de conserver une diversité non négligeable (HERNANDEZ BERMEJO et al, 1992).

A la vue de tout cela, la région andine peut être considérée comme un des plus grands centres mondiaux de biodiversité et, d'après Vavilov, un centre majeur de domestication. Dans cette région, la pomme de terre (*Solanum tuberosum ssp. andigena*) vient au premier plan et plus de 400 cultivars indigènes y ont été répertoriés. D'autres plantes à tubercules ont également été domestiquées comme la oca, (*Oxalis tuberosa Mol.*), la papalisa (*Ullucus tuberosus Caldas*) et l'isaño (*Tropaelum tuberosum Ruiz et Pavon*). Ces quatre types de tubercules constituent le groupe des « tubercules andins ». Dans les vallées, ces espèces sont associées au maïs (*Zea mais L.*), aux fèves (*Vicia faba L.*), au lupin (*Lupinus mutabilis Sweet*) et à des racines comme le yacón (*Smallanthus sonchifolia H. Robb.*). Certaines espèces tolérantes au froid ont été introduites dans les zones de hautes altitudes. Il s'agit, entre autres, de la quinoa (*Chenopodium quinoa Wild.*) et de la maca (*Lepidium meyenii Walp.*). La présence de toutes ces espèces illustre bien la très grande diversité de plantes alimentaires dans le centre andin (HERNANDEZ BERMEJO et al, 1992 ; ROUSELLE, 1996).



Figure 1: Carte Politique de la Bolivie (Source: Lamina Educativa, non daté)

2 LA BOLIVIE

2.1 GÉNÉRALITÉS

République d'Amérique du Sud, la Bolivie est située entre les parallèles de latitude 10° 23' et 22° 53' Sud et les méridiens de longitude 69° 28' et 57° 33' Ouest (AQUASTAT, 2000). Limitée au Nord et à l'Est par le Brésil, au Sud par le Paraguay et l'Argentine, et à l'Ouest par le Chili et le Pérou, elle s'étend sur 1 098 581 km² (soit une superficie égale à 36 fois le Belgique – cinquième pays par la surface en Amérique du Sud). Elle a pour capitale administrative, La Paz et pour capitale culturelle Sucre. Lors de son indépendance le 6 août 1825, elle possédait un territoire de deux millions de km², mais qui fut rogné lors de la guerre du Pacifique qui opposa la Bolivie au Chili entre 1879 et 1884 et qui la priva de sa façade maritime. La Bolivie perdit ensuite le territoire d'Acre au profit du Brésil en 1903 (ARMSTRONG et al, 2007).

La langue officielle du pays est l'espagnol. Celui-ci est divisé politiquement et administrativement en neuf départements : Pando, Beni, La Paz, Cochabamba, Santa Cruz, Chuquisaca, Tarija, Oruro et Potosi. Chaque département, dirigé par un préfet est à son tour subdivisé en provinces gouvernées par des sous-préfets (FIGURE 1).

2.2 SITUATION SOCIO-ÉCONOMIQUE ET POLITIQUE

La population bolivienne est de 9 684 000 d'habitants (2008) avec un taux de croissance démographique annuel de 1,7 % (2008) et une densité de 8,9 habitants par km² (2008) (IFAD, 2008). Environ 60% de cette population serait d'origine indienne. En effet, le pays compte 36 groupes indiens reconnus et la plupart des Boliviens revendiquant leur appartenance à ces groupes sont des Aymaras ou des Quechuas vivant sur les hauts plateaux. Près de 30% de la population parle le quechua. On trouve également des groupes tels que les Guarani et les Chiquitano dans les plaines. Environ trois quarts des Boliviens se prétendent catholiques mais le pratiquent à des degrés divers. Malgré cela, la plupart des rites et pratiques religieux chrétiens sont imprégnés de croyances incas et aymaras. Un exemple en est l'utilisation du calendrier lunaire par les *campesinos* (ARMSTRONG et al, 2007). La population rurale représente 34,4 % de la population.

La Bolivie est considérée comme un des pays les plus pauvres de l'Amérique du Sud, avec 64% de la population vivant sous le seuil de pauvreté (seuil défini en fonction d'un pourcentage du revenu moyen dans le pays) (IFAD, 2004) et 83,3% de la population rurale vivant sous ce seuil (IFAD, 2002). Mais ces dernières années, on remarque que ce taux de pauvreté national tend à baisser. Son PIB est de 16, 674 milliards de dollars US (FAOSTAT, 2008). Les personnes âgées, handicapées et les chômeurs sont fréquemment contraints à la mendicité du fait de l'absence de système de protection sociale (ARMSTRONG et al, 2007). D'autres éléments posent problèmes en ce pays et, notamment, le taux de mortalité infantile élevé (enfants de moins de 5 ans) de 57,4 pour 1000 (IFAD, 2007), le taux de natalité élevé de 2,3 enfants par femme (IFAD, 2007) et le faible taux d'alphabétisation des femmes. La Bolivie se trouve au 113^{ième} rang mondial sur l'échelle de l'indicateur de développement humain du programme des Nations Unies pour le développement (PNUD) sur 182 pays en 2007 (FAO).

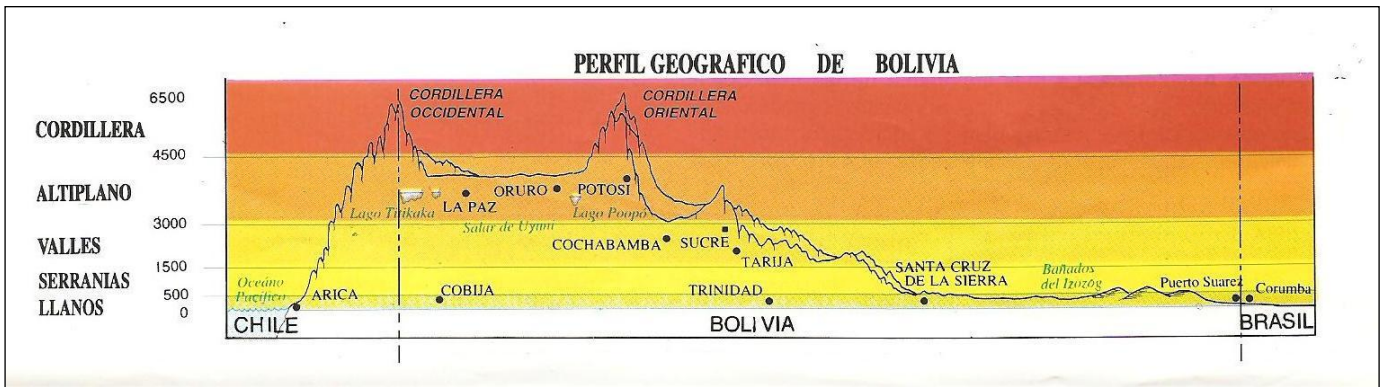


Figure 3: Profil géographique de la Bolivie (Source: Lamina Educativa, non daté)

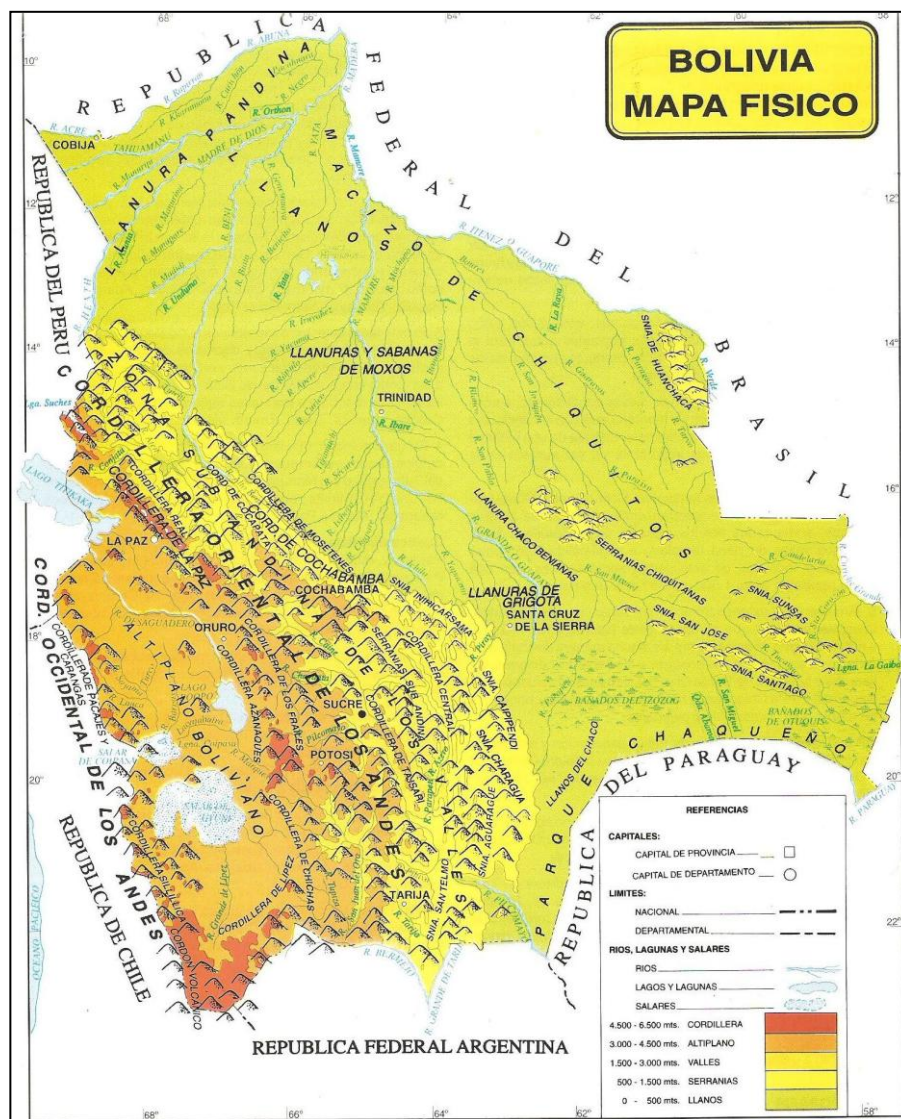


Figure 2: Carte Physique de la Bolivie (Source; Lamina Educativa, non daté)

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Le pays exporte essentiellement du gaz et du zinc, ainsi que du soja, du sucre, du coton, du maïs, du bois et de la coca.

Actuellement, il est impossible de dissocier le nom d'Evo Morales de la Bolivie. Elu en décembre 2005 et à nouveau élu le 6 décembre 2009 pour 5 ans, il est le premier Indien à accéder à la présidence de la Bolivie. Depuis, plusieurs changements ont eu lieu. Il a notamment nationalisé le gaz bolivien afin de marquer son opposition à l'exploitation étrangère. Il est fortement soutenu par le peuple indien et les campesinos de par sa volonté de les faire accéder à l'égalité et d'améliorer leur statut. Par contre, les classes moyennes et supérieures émettent certaines réserves face à son idéologie socialiste et ses prises de positions anticapitalistes. Un autre cheval de bataille d'Evo Morales concerne la coca, qui est une source de revenu non négligeable pour les personnes sous-employées ou les anciens mineurs reconvertis en *cocaleros* dans les années 70. Il souhaite améliorer l'image de cette plante pouvant contrer les effets de l'altitude, la fatigue, l'anxiété ou encore la faim et la soif en développant des produits alimentaires et cosmétiques, mais tout en continuant à lutter contre le trafic de cocaïne.

2.3 GÉOGRAPHIE ET CLIMAT

En Bolivie, les Andes sont composées par deux cordillères parallèles. La Cordillère Occidentale sépare le pays de la côte pacifique. La Cordillère Orientale, à l'Est de la précédente, est composée de la Cordillère Real qui descend vers le Sud-est du pays pour former la Cordillère centrale en s'infléchissant vers le Sud et rejoignant la Cordillère Occidentale. Ces cordillères définissent trois régions : les vallées semi-tropicales, les plaines orientales et l'Altiplano (FIGURES 2 et 3). Les dénivellations importantes qui existent entre ces différentes zones confèrent à la Bolivie une immense diversité écologique, géologique, animale et végétale (ARMSTRONG et al, 2007).

Les conditions climatiques varient fortement d'une région à l'autre du pays, passant d'un climat tropical dans les plaines à un climat polaire dans les hauteurs des Andes. Les températures dépendent de l'altitude et les précipitations sont généralement importantes en été, avec des quantités décroissantes du Nord vers le Sud.

2.4 LES VALLÉES SEMI-TROPICALES

Situées à l'Est de la Cordillère Orientale et d'une altitude variant entre 1 000 et 3 500 m, elles sont composées au Nord par les « Yungas », signifiant « vallées chaudes » en Aymara, et au Sud par des vallées fertiles. Les Yungas sont des zones humides avec des vallées profondes et des falaises escarpées (AQUASTAT, 2000). Elles représentent une zone de transition entre les hauts plateaux arides et les plaines tropicales humides. Leur climat humide subtropical, avec une température moyenne variant entre 16°C et 19°C ainsi que leurs précipitations moyennes de 1 350 mm par an, permet la culture du café, d'agrumes, de la canne à sucre, du tabac, du cacao ainsi que de la coca assurant la couverture des besoins des hauts plateaux. Les vallées fertiles, quant à elles, possèdent des pentes plus douces et un climat tempéré. S'élevant entre 2 000 et 3 500m, elles constituent le grenier à blé de la Bolivie. On y cultive le maïs, le blé, l'avoine et un grand nombre de variétés de tubercules. On retrouve dans ces vallées semi-tropicales les villes bien connues de Cochabamba, Sucre et Tarija (ARMSTRONG, 2007).

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

2.5 LES PLAINES ORIENTALES

Ces plaines alluviales se situent dans la partie Nord du pays. Ces grandes plaines inondables humides, ces savanes et la forêt tropicale appartenant au bassin amazonien, couvrent quasiment deux tiers du territoire bolivien mais n'abritent cependant que 20% de la population bolivienne. Santa Cruz y représente la plus importante réserve de gaz et de pétrole. Le climat y est chaud avec une température moyenne entre 23°C et 25°C au Sud et 27°C au Nord. Mais les vents froids, chargés de sable et de poussières venant du Sud et nommés « *surazos* », sont capables de faire brusquement chuter les températures (AQUASTAT, 2000).

2.6 L'ALTIPLANO

À l'Ouest du pays, ce plateau s'étage entre 3 700 et 4 100 m, et est interrompu de temps à autre par quelques élévations telles que des montagnes ou des pics volcaniques. Il couvre une surface de 70 000 km² (c'est-à-dire 12% du territoire bolivien) et comprend les départements de Potosi, Oruro et La Paz. On y retrouve 35 % de la population totale et un quart de la population rurale bolivienne (VACHER, 1997).

Il est formé principalement par des dépôts causés par l'érosion hydrique et éolienne des montagnes environnantes. À l'extrémité Nord, culmine le plus haut lac navigable que la Bolivie partage avec le Pérou, le Lac Titicaca. Ce dernier a un effet modérateur sur la température qui en moyenne varie entre 7°C et 11 °C mais qui est inférieure à 0°C en hiver. Les précipitations sont assez faibles. Elles sont de 300 mm et 550 mm respectivement pour l'Altiplano Sud et l'Altiplano Nord. Ces pluies proviennent majoritairement des tempêtes d'été qui se produisent entre décembre et janvier. Vers le Sud-Ouest du pays, dans la zone plus sèche et moins peuplée de l'Altiplano s'étendent des lagunes salées à savoir le Salar d'Uyuni et le Salar de Coipasa (AQUASTAT, 2000).

2.7 L'ALTIPLANO ET L'AGRICULTURE

Cette zone est une région agricole importante depuis les civilisations pré-incas et surtout en ce qui concerne les tubercules (*Solanum sp.*) et les graines andines (*Chenopodium quinoa Wild.*, *Chenopodium pallidicaule Heller*). Malheureusement, les sécheresses et gelées fréquentes auxquelles sont exposées les cultures font varier fortement leur rendement. Une année sur trois, les précipitations de ce territoire sont inférieures à la moitié de l'apport nécessaire lors de la saison culturale et la probabilité d'avoir des températures inférieures à -2°C lors de la croissance des cultures est de 30%. Pour faire face à ces difficultés climatiques, les agriculteurs ont un type particulier d'agriculture basé sur plusieurs points principaux (VACHER, 1997) :

- Ils sélectionnent et utilisent des plantes résistantes à la sécheresse et au froid.
- Ils utilisent un éventail important de variétés et cultivars afin d'assurer la récolte.
- Ils adaptent la gestion des cultures aux variations climatiques et de relief (date de plantation, travail du sol...).
- Ils mettent en place des systèmes de jachères afin de permettre à la terre de se reposer.

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les agriculteurs définissent trois zones de cultures en fonction de l'altitude et des systèmes pratiqués : la zone plane ou « *pampa* » (3 200 m), la zone de montagne ou « *ladera* » et la zone haute ou « *puna* » (3 500 m).

Dans la « *pampa* », les parcelles possèdent des pentes de moins de 5% et un sol argileux riche en matière organique. Elles sont souvent sujettes aux inondations et aux gelées. On y cultive la pomme de terre, les fèves (*Vicia faba L.*), la oca (*Oxalis tuberosa*), la papalisa (*Ullucus tuberosus*), l'avoine (*Avena sativa L.*) et l'orge (*Hordeum vulgare L.*) (TERRAZAS et VALDIVIA, 1999).

Les pentes de la « *ladera* » sont plus fortes et protègent les cultures des dégâts du gel. Les terres y sont fertiles et la pomme de terre, la oca, la papalisa, l'isaño et les fèves y sont cultivés.

L'humidité due à la brume est plus forte en zone haute de « *puna* ». Il s'agit de steppes herbeuses de haute altitude où l'on peut rencontrer de grands contrastes thermiques avec des gelées nocturnes atteignant jusqu'à -20°C mais des températures diurnes pouvant s'élever à 30°C-35°C lors de fortes insulations. Le nom « *Puna* » signifie sommeil en langue quechua en raison des difficultés d'adaptation physiologique qu'on peut y rencontrer. La végétation dominante est constituée de prairies et de parcelles cultivées de pommes de terre nommées « *mantas* ».

2.8 RÉGION NORD POTOSI ET ORURO - LLALLAGUA

La zone qui concerne ce travail comprend une continuité écologique de « *Puna* » s'étageant entre 3 400 m et 3 800 m d'altitude et de « *Puna alta* » s'étageant de 3 800 m à 4 200 m.

Cette région tire ses ressources de l'exploitation minière et des activités d'agriculture et d'élevage. Parmi les communautés, 28% à 68% sont rurales avec une moyenne de 4 personnes par ménage et une incidence de pauvreté variant entre 28 et 68%. Chaque agriculteur cultive entre 0,3 et 1 hectare en effectuant des rotations avec de la pomme de terre, de l'orge ou de l'avoine sur deux ans et incluant également un temps de repos d'au moins 10 ans pendant lequel les bêtes pâturent la parcelle. Celles-ci arrivent au second plan après les cultures, il s'agit principalement de camélidés (lamas, alpagas) et de moutons ainsi que de quelques ânes pour le transport (TERRAZAS et al, 2008).

Cette région est un microcentre dépositaire d'une importante richesse génétique au niveau des pommes de terre. La région Nord-Potosi et Oruro en compte environ 200 variétés correspondant aux espèces suivantes : *S. x juzepczukii* Buk., *S.x curtilobum* Juz. et Buk., *S. stenotomum* Juz. et Buk., *S. x ajanhuiri* Juz. et Buk., *S.goniocalyx* et *S. tuberosum ssp. andigena*. Les agriculteurs diversifient à ce point les espèces variétés pour deux raisons. Ils veulent, d'une part, assurer la sécurité alimentaire de leur ménage et, d'autre part, gérer les risques climatiques. La pomme de terre est essentielle à la subsistance des communautés de cette région. Elle est consommée aussi bien par les enfants que les adolescents et adultes tout au long de la journée, couvrant ainsi une part considérable des besoins caloriques et énergétiques. Elle est cuisinée avec la pelure (« *wayk'u* »), en soupe, dans de la terre chaude (« *wathia* ») ou encore transformée en chuño (TERRAZAS et al, 2008).

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

2.9 NORD DE L'ALTIPLANO, LA PAZ – CARIQUINA GRANDE

Cette région fut le berceau de la pomme de terre. Les peuples andins tels que les Wari, les Tiwanakota et les Incas ont combiné la variabilité d'espèces et de variétés de cette région et leurs caractéristiques génétiques et ont domestiqué les pommes de terre sylvestres. Le résultat en est un nombre important d'espèces dont les variétés s'adaptent fortement à leur environnement.

On retrouve dans la région de La Paz une population de 370 variétés de pommes de terre correspondant aux espèces suivantes : *S. x juzepczukii* Buk., *S.x curtilobum* Juz. et Buk., *S.stenomum* Juz. et Buk., *S.ahanhuiri* Juz. et Buk., *S. goniocalyx*, et *S. tuberosum ssp. andigena* Hawkes.

Cariquina Grande se trouve dans la province de Camacho et dans la municipalité de Mocomoco. Les habitants y sont principalement Aymaras. Cette communauté se situe dans une région de « Puna » (3 330 m à 4 300 m) avec une majorité de montagnes et quelques plaines couvertes de prairies. Les surfaces cultivées sont réparties de la manière suivante (IRIARTE et al, 2009) :

- Les terres de gestion communautaire se trouvent entre 4 100 m et 4 300 m d'altitude et sont appelées *Aynocas*. On y plante de la pomme de terre, suivi d'orge l'année suivante. Les terres sont ensuite laissées au repos pendant 15 ans.
- Les terres gérées individuellement, *Uyus*, sont cultivées près des maisons, entre 3 950 m et 4 100 m d'altitude. La pomme de terre est plantée en tête de rotation suivie de la oca ou la papalisa la deuxième année, de l'avoine ou de l'orge la troisième année. La terre est ensuite laissée en jachère pendant 3 à 5 ans.
- Les terres familiales nommées *Sayañas* sont cultivées à une altitude de 3 890 m à 3 950 m. On y rencontre une grande diversité d'espèces, en commençant par la pomme de terre, en rotation avec la oca ou la papalisa la deuxième année, le haricot la troisième année, le blé ou l'orge la quatrième année et enfin la quinoa la cinquième année pour laisser ensuite reposer la terre pendant 3 ans.
- Les *Kutiramas* se rencontrent au bord du lac Titicaca à une altitude variant de 3 825 m à 3 890 m et sont gérées de manière individuelle. La plantation des pommes de terre y est effectuée tôt et elles sont en rotation avec du haricot ou du pois la deuxième année et du blé ou de l'orge la troisième année.

L'indice de pauvreté de cette région atteint 98,7%. Son économie dépend de la pêche, de l'agriculture et de l'élevage. Les agriculteurs y cultivent principalement des *Kutiramas* de 100 à 1500 m², des *Sayañas* de 1 500 à 2 500 m², des *Uyus* de 500 à 2 500 m² et des *Aynocas* de 2 500 à 10 000 m² (IRIARTE et al, 2009).

2.10 BIOINDICATEURS NATURELS DE L'ALTIPLANO

Les agriculteurs sont des gardiens de la biodiversité des pommes de terre indigènes. Ils les conservent depuis des décennies en s'aidant d'indicateurs naturels afin de prévenir et réduire au maximum les risques climatiques tels que le gel (*juyphi* en aymara), la grêle (*chhijchhi* en aymara), la sécheresse ou les pluies intenses (TERRAZAS et al, 2008).

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Le 21 juin, lors de la nouvelle année aymara, les paysans font des offrandes à la Pachamama et au soleil afin que l'année agricole à venir soit très bonne. Ce jour là, ils observent également le lever et le coucher du soleil afin de prédire les événements de l'année agricole à venir. Si le soleil se lève avec du retard cela signifie que les semis pourront se faire en deuxième ou troisième période. S'il se couche avec un ciel chargé de nuages peu épais, cela signifie que la production sera normale et qu'il y aura peu de pluie, de grêle et de gel. (INGAVI, 2006).

Les agriculteurs s'intéressent aussi à l'endroit où le lapin « Tuyu » construit sa tanière de juillet à septembre. Si cette dernière est établie dans la pampa cela signifie que l'année sera peu pluvieuse.

Un autre animal qui suscite leur intérêt est le Liqi-liqi (FIGURE 4). Lorsque le nid de cet oiseau est fait de totora (roseau), la récolte sera bonne car il y aura des pluies. Si l'oiseau s'empare d'objet en métal, cela indique qu'il gèlera sans doute. Enfin les taches et la couleur de leurs œufs permettent de prévoir la qualité des différentes récoltes (INGAVI, 2006).



Figure 4: Oiseau Liqi-Liqi (Source: B. Knapton, 2003)

L'observation du bout de la queue des lézards permet également de prévoir la qualité des récoltes ainsi que la fréquence de gel.

Au mois de septembre, les lieux où se déplace le renard donnent une indication de l'endroit où établir ses cultures. S'il est vu à proximité des maisons et dans les prairies, il est possible d'ensemencer son champ à cet endroit. Les fèces de ces renards prédisent une bonne production lorsqu'elles sont blanches.

Le Mauri, un poisson que l'on trouve dans le lac Titicaca et dans les rivières de l'Altiplano pond ses œufs durant les mois d'octobre et de décembre. Lorsque l'année sera peu pluvieuse, il dépose ses œufs au centre des cours d'eau car ils ont besoin d'eau en permanence. Par contre si l'on retrouve ceux-ci sur les rives des cours d'eau, les pluies s'annoncent constantes (INGAVI, 2006).

La plante la plus utilisée est la Waycha qui fleurit plusieurs fois d'août à septembre. Ses fleurs sont jaunes et elles permettent de prévoir si les semis seront bons ou mauvais.

La Sank'ayu est un cactus dont les fleurs donnent également une indication sur l'évolution des semis.

Enfin, la Laqhu, plante aquatique que l'on rencontre dans les rivières, les eaux stagnantes et le Lac Titicaca donne aussi des indications sur la valeur de la production de par sa couleur et sa relation à l'eau. Lorsqu'elle croît dans des eaux cristallines, cela annonce du gel, tandis que lorsqu'elle est présente dans des eaux souillées et turbulentes, la production s'annonce bonne et indemne de gel (INGAVI, 2006).

3 LA POMME DE TERRE

3.1 INTRODUCTION

La pomme de terre se place en quatrième position des plantes cultivées au niveau mondial après le blé, le maïs et le riz (MILBOURNE et al, 2007). Elle représente la principale denrée non céréalière du monde. En 2007, la production totale mondiale était de 325 millions de tonnes et la surface totale cultivée s'élevait à 19,3 millions d'hectares avec un rendement mondial moyen de 16,8 tonnes par hectare. Depuis le début des années 90, la production et la demande ont augmenté en Afrique, Asie et Amérique latine et pour la première fois, en 2005, les pays en développement ont dépassé les pays développés en termes de production. La Chine s'est hissée au rang de premier producteur mondial et produit avec l'Inde près d'un tiers de la récolte mondiale (FAO, 2008d).

Les tubercules de la pomme de terre sont riches en hydrates de carbones, mais également en micronutriments et particulièrement en vitamine C. Ils ont une teneur en protéines en poids sec très élevée (semblable à celle des céréales) comparées aux autres tubercules. Dans le monde en développement, cette plante est généralement utilisée pour la consommation directe. Par contre, ces dernières années, dans les pays développés, son utilisation en tant que produit transformé devient de plus en plus importante. Nous la consommons sous forme de chips, de frites, de flocons déshydratés ou nous en faisons des produits non alimentaires tels que plastique biodégradable, colle ou éthanol (MILBOURNE et al, 2007).

De par sa facilité de culture, son haut rendement par unité de surface, sa bonne adaptation à différentes situations géographiques et climatiques, et sa teneur énergétique élevée, la pomme de terre est l'aliment du futur.

Les estimations prédisent une augmentation de la population mondiale de plus de 100 millions d'habitants par an les vingt prochaines années, dont 95 % dans les pays en développement. Il est donc essentiel d'assurer la sécurité alimentaire de nos peuples tout en protégeant la base de nos ressources naturelles et la pomme de terre peut aider à relever ce défi (FAO, 2008d).

3.2 ORIGINE ET TAXONOMIE

La zone originelle de la pomme de terre se trouve sur les hauts plateaux de la Cordillère des Andes, près du Lac Titicaca, à environ 3 800 m au dessus du niveau de la mer, à la frontière entre la Bolivie et le Pérou. Elle y était déjà cultivée il y a 9 000 ans.

Elle fut découverte par les conquistadors espagnols lors de leur invasion du Nouveau monde à partir de 1530. Une des premières descriptions de la pomme de terre fut donnée par un soldat prénommé Pero Cieza de León, qui, dans la description de ses déplacements de la Colombie à la Bolivie parlent des habitudes alimentaires des populations du Lac Titicaca (ROUSSELLE, 1996).

L'introduction de cette plante en Europe se fit à la fin du XVI^{ème} siècle par l'Espagne vers 1570 et par les Iles Britanniques entre 1588 et 1593 (ROUSSELLE, 1996). Elle voyagea à travers l'Europe sous

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

forme de présents exotiques, pris place dans les jardins botaniques et parvint dans les Indes et en Asie par l'intermédiaire des marins la consommant.

Mais c'est seulement dans les années 1770, lors des périodes de famine en Europe que cette plante prit toute son importance et commença à être cultivée à grande échelle pour devenir une culture de base au XIX^{ème} siècle (FAO, 2008c).

De nombreux chercheurs se sont intéressés à la taxonomie et à l'origine botanique de la pomme de terre. Les premiers furent des Russes Bukasov, Vavilov et Rybin dans les années 30. Depuis, d'autres chercheurs, parmi eux, le Britannique Hawkes, l'Américain Correll, et le Péruvien Ochoa y ont consacré une bonne partie de leur temps (ROUSSELLE, 1996).

La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. a été décrite par Linné en 1753. Elle appartient à la famille des *Solanaceae*, et partage le genre *Solanum* avec au moins 1 000 autres espèces, dont la tomate. Ce genre ne compte qu'un petit dixième de Solanacées tubéreuses, réparties en 200 espèces, entre autres, *Solanum brevicaule* Bitter. (2n=24), *Solanum juzepczukii* Buk. (2n=36), *Solanum stenotomum* Juz. et Buk. (2n=24), *Solanum curtilobum* Juz. et Buk. (2n=60). On retrouve la plus grande variabilité de ces espèces au cœur des Andes (Pérou, Bolivie) où ont été répertoriés plus de 100 espèces sauvages et 400 cultivars de pommes de terre indigènes. Le genre *Solanum* est divisé en sous-genres, sections, sous-sections, super-séries et séries. *Solanum tuberosum* L. appartient au sous-genre *Potatoe* (G. Don) D'Arcy, à la section *Petota* Dumort, à la sous-section *Potatoe* G. Don, à la super-série *Rotata* et la série *Tuberosa* (cultivées). L'espèce est divisée en deux sous-espèces : *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* et *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* Hawkes (ROUSSELLE, 1996 ; MILBOURNE et al, 2007).

Le nombre de chromosomes de base de ces espèces est de 12 chromosomes mais l'on connaît des espèces allant de diploïdes (2n=24) à hexaploïdes (2n=72). La principale espèce ciblée dans ce travail, *Solanum tuberosum* L., est tétraploïde (2n=48). Elle serait le résultat d'un croisement entre l'espèce *Solanum stenotomum* Juz et Buk. (2n=24) et l'espèce sauvage *Solanum sparsipilum* (Bitt.) Juz. et Buk. (2n=24). *Solanum stenotomum* Juz. et Buk. serait la première espèce cultivée et a été domestiquée autour du Lac Titicaca sur le haut plateau andin (FIGURE 5) (ROUSSELLE, 1996 ; MILBOURNE et al, 2007).

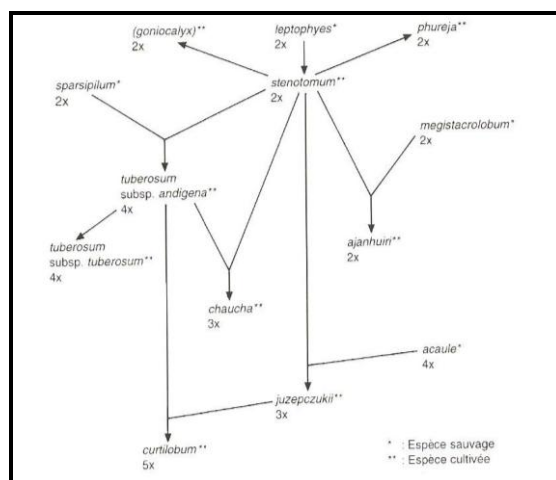


Figure 5: Origine des espèces cultivées de pommes de terre (*Solanum* sp.) (d'après Hawkes, 1990)

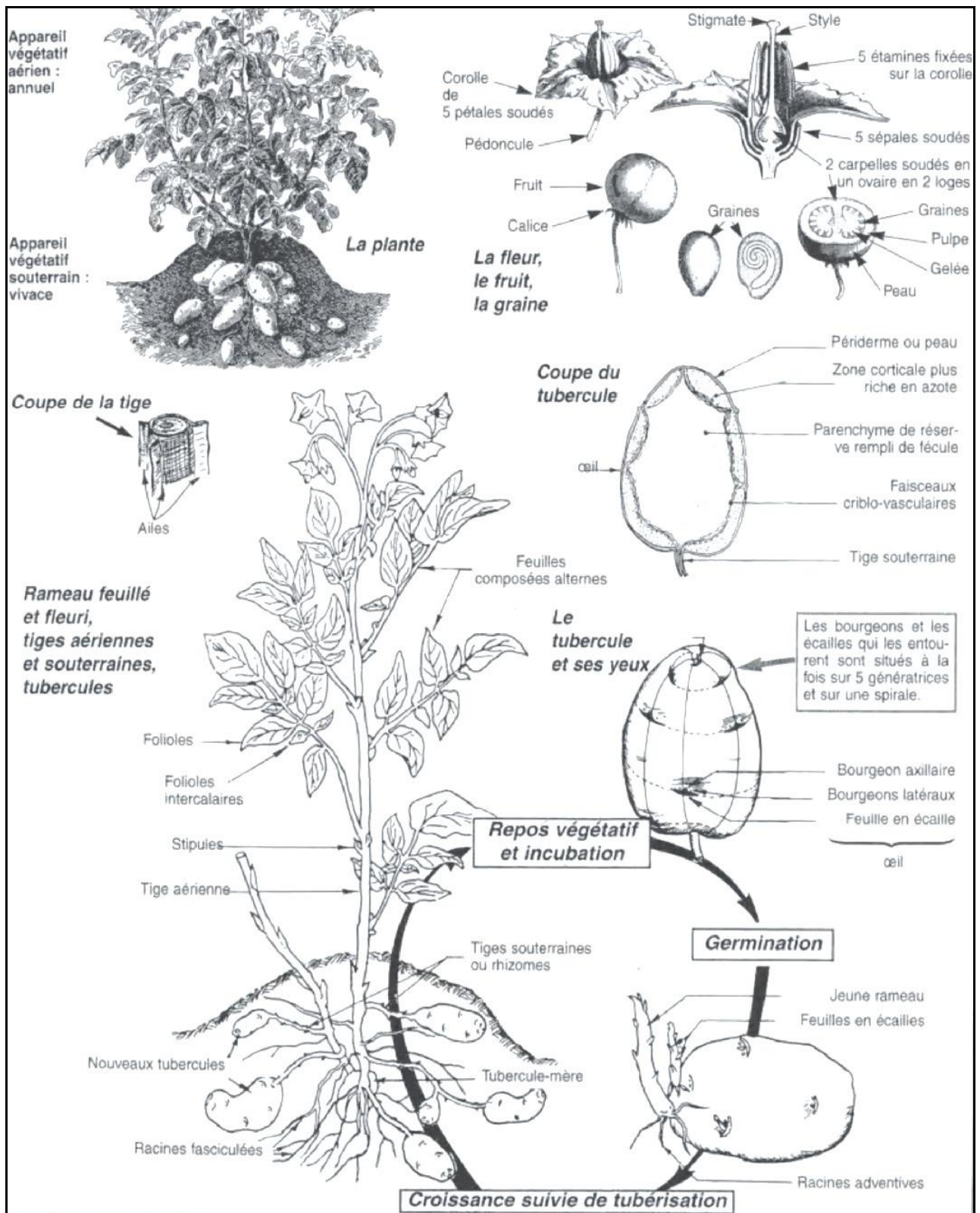


Figure 6: Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre (Source: Soltner, 2005)

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

La sous-espèce *Solanum tuberosum ssp. andigena* (Juz. et Buk.) Hawkes est adaptée aux jours courts de 9 à 12 heures et est principalement cultivée dans la région andine d'Amérique du Sud entre 2 500 m et 4 000 m (zones montagneuses du Nord-est de l'Argentine, « Puna et Pré-Puna de Bolivie, centre et sud du Pérou, plateaux équatoriens, Colombie et Venezuela). Par contre, *Solanum tuberosum ssp. tuberosum* est plantée dans le monde entier et provient sans doute d'une introduction de *andigena* qui s'est adaptée à des durées de jour plus longues (FAO, 2008a ; OCHOA, 2001).

3.3 DESCRIPTION BOTANIQUE ET MORPHOLOGIQUE

La pomme de terre est une plante herbacée vivace (de par ses tubercules se développant à l'extrémité de ses tiges souterraines), mais on la cultive généralement annuellement (ROLOT, 2001).

Les tiges de section irrégulière sont présentes au nombre de 2 à 10, parfois plus. Celles-ci sont au départ dressées mais peuvent développer un port partiellement ou totalement rampant avec l'âge. Elles portent des feuilles composées de 3 à 5 paires de folioles qui selon leur aspect et leur coloration caractérisent les différentes variétés. Les fleurs, groupées en inflorescence cymeuse, apportent également des informations sur les variétés de par leur couleur, la forme de la corolle ou du stigmate ou encore certaines anomalies au niveau des étamines. Ces fleurs sont généralement autogames mais souvent stériles. Elles sont pentamères et produisent des baies vertes ou brunes violacées, jaunissant à maturité et fournissant à leur tour des graines. Celles-ci sont peu utilisées pour la reproduction de pommes de terre par graines mais sont indispensables pour la sélection amélioratrice (ROUSELLE, 1996).

Le système souterrain est composé de racines fines, du tubercule-mère desséché, de tiges souterraines et de tubercules. Les tiges souterraines sont également appelées stolons ou rhizomes, elles sont courtes et leurs extrémités forment des tubercules. Ces organes portent les réserves nécessaires à la formation d'une nouvelle plante (FIGURE 6). En effet, la pomme de terre se reproduit principalement par multiplication végétative par le biais de ses tubercules. L'ensemble des plantes provenant d'un même tubercule est un clone (ROUSELLE, 1996 ; SOLTNER, 2005).

Les tubercules peuvent posséder des formes, une texture de peau, un grain et une couleur de chair différents. Il s'agit encore de caractères propres à identifier les variétés. La matière sèche produite par la plante y est stockée à hauteur de 75% à 85%. Le bourgeon terminal (bg t) appelé « couronne » se trouve à l'extrémité apicale du tubercule tandis que « l'ombilic », c'est-à-dire le point d'attache du stolon (st), est situé à l'extrémité opposée (talon). Les bourgeons axillaires sont nommés « yeux » (oe) et sont disposés sur tout le tubercule (FIGURE 7) (ROUSELLE, 1996).

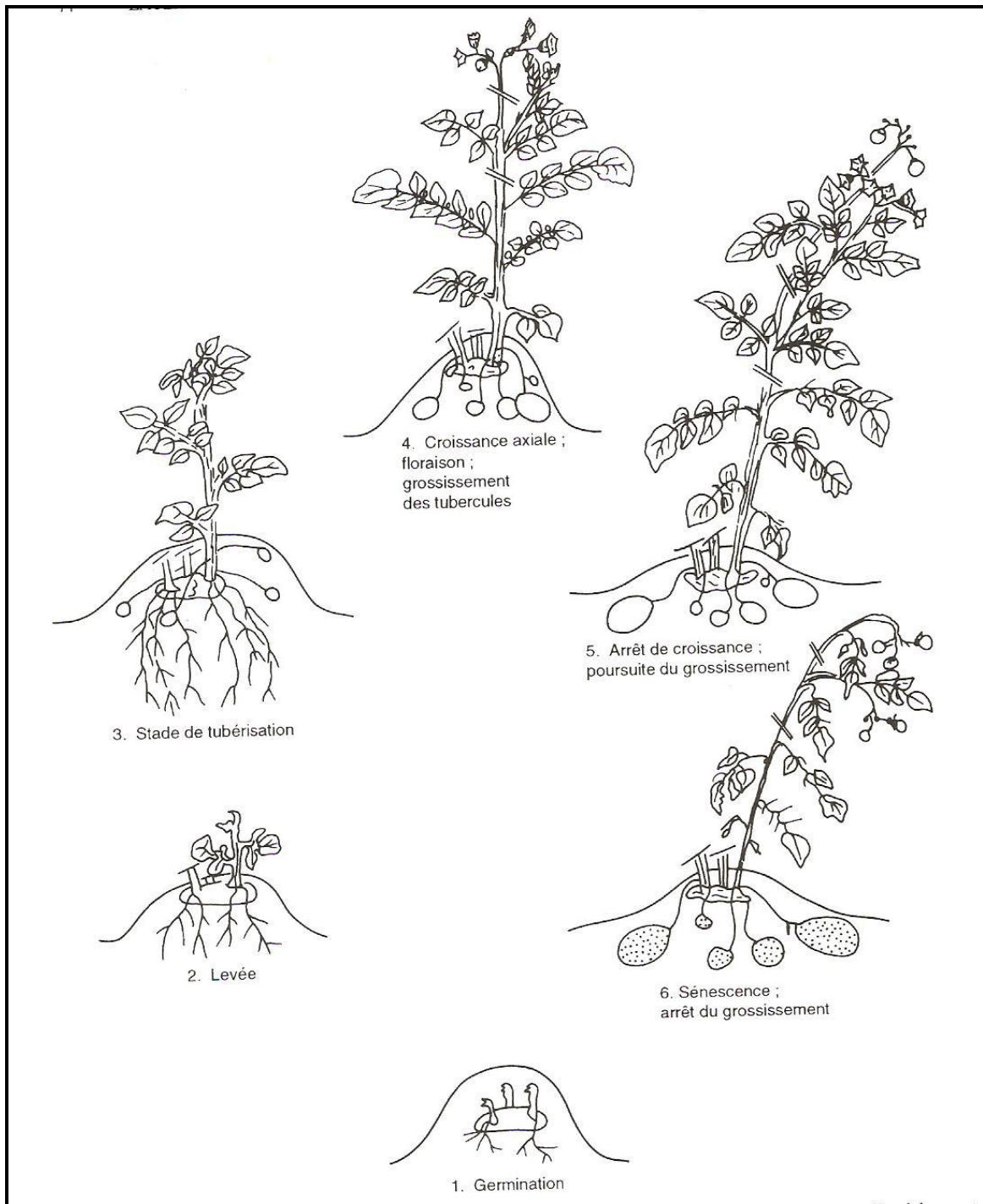


Figure 7: Schéma du cycle végétatif de la pomme de terre. (Source: Rouselle, 1996)

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

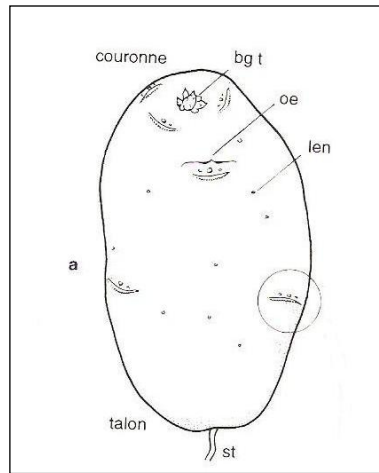


Figure 8: Structure externe d'un tubercule de pomme de terre (Source: Rouselle, 1996)

3.4 PHYSIOLOGIE

Un tubercule germé appelé tubercule-mère et planté dans le sol va donner naissance à des tiges feuillées. L'âge physiologique de ce tubercule au moment de la plantation va influencer la croissance et le développement de la plante, notamment, le nombre de tiges et de tubercules-fils, la durée du cycle végétatif et le nombre et poids individuel des tubercules. Ce tubercule est une tige modifiée dont les entre-nœuds sont courts et épaissis (ROUSELLE, 1996).

Après plantation, les bourgeons du tubercule engendrent des germes qui s'allongent afin d'atteindre le niveau du sol et des racines qui commencent leur élongation et leur ramification. Il s'agit du stade de la levée durant lequel la plante puise dans les réserves du tubercule-mère.

Les tiges forment des rameaux feuillés au dessus du sol et des stolons sous terre. Cela permet à la plante de devenir rapidement autotrophe. Il s'agit de la phase de croissance durant laquelle le feuillage se développe et produit une substance de tubérisation (acide abscissique). Cette phase est ralentie dès le début de la phase de tubérisation mais peut se poursuivre plus ou moins longtemps au-delà de celle-ci.

Au stade de tubérisation, les extrémités des stolons cessent de grandir et se renflent pour produire des ébauches de tubercules en environ une ou deux semaines. Cette étape est suivie par une phase de grossissement des tubercules durant laquelle les cellules des tubercules se multiplient et augmentent de volume en accumulant de l'eau et des grains d'amidon. (ROUSELLE, 1996).

La phase de tubérisation se poursuit jusqu'à la sénescence de la plante dont le feuillage jaunit progressivement de bas en haut et finit par être totalement desséché (FIGURE 8).

Durant la période de grossissement, les tubercules sont en repos végétatif. Ils ne peuvent pas germer même dans les conditions optimales de températures et d'humidité. Mais à la fin de leur repos, ils sont alors capables de produire des bourgeons, ce qui constitue le point de départ d'un nouveau cycle végétatif. Il est cependant important de noter que l'on peut maintenir les tubercules en dormance et

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

donc empêcher la germination par le maintien des conditions optimales et notamment des basses températures. (ROUSELLE, 1996 ; SOLTNER, 2005).

3.5 LA POMME DE TERRE DANS LES ANDES

Dans les Andes, la culture de la pomme de terre est encore en relation étroite avec les cultures ancestrales qui décident des systèmes de culture et des variétés utilisées. Elle est aussi liée au type de consommation que les paysans en font. Ils choisissent les variétés en fonction de leurs caractéristiques culinaires ou utilitaires. Des variétés indigènes dites « douces » (*Solanum tuberosum ssp. andigena* (4n), *S. goniocalyx* (2n), *S. phureja* (2n), *S. stenotomum*(2n)) sont cultivées pour l'autoconsommation mais on trouve également des variétés hybrides modernes (*S. tuberosum ssp. tuberosum*) destinées à la commercialisation ou des variétés indigènes amères (*S. ajanhuiri* (2n), *S. x juzepczukii* (3n), *S. x curtilobum* (5n)) cultivées dans un but de conservation (ROUSELLE, 1996).

La culture s'étend d'octobre à avril-mai et l'altitude détermine en grande partie son importance ou l'utilisation préférentielle de l'une ou l'autre variété. Les pommes de terre douces et amères indigènes sont prépondérantes entre 3 900 m et 4 200 m. Mais entre 3 500 m et 3 900 m, environ 50 % des champs sont encore cultivés avec des variétés indigènes (ROUSELLE, 1996).

3.6 LA POMME DE TERRE EN BOLIVIE

Comme dit précédemment, la pomme de terre est originaire d'Amérique du Sud. Pourtant, au niveau mondial, la production de l'Amérique latine est faible.

La pomme de terre est, avec le soja, la principale culture vivrière de la Bolivie et sa production a augmenté régulièrement ces dix dernières années. Elle est cultivée par quelque 200 000 petits agriculteurs dans un but d'autoconsommation sur une surface de 135 000 hectares dans 7 des 9 provinces du pays (FAO, 2008e). Cette surface représente environ 6,5% de la superficie cultivée en Bolivie. Cette plante constitue actuellement l'une des productions les plus importantes de l'économie et de l'alimentation bolivienne et génère une quantité de 700 à 900 milles tonnes de pommes de terre fraîches ou de plants par année. Elle est essentiellement cultivée dans les zones de hautes altitudes et est souvent exposée à la grêle, la gelée et la sécheresse. C'est pourquoi, la plupart des paysans cultivent des variétés traditionnelles plus tolérantes à ces risques climatiques. On retrouve 81% de cette culture dans l'Altiplano et les vallées interandines mais on observe de nouvelles et importantes extensions dans les plaines. Les petits agriculteurs préfèrent se concentrer sur cette culture grâce à sa capacité d'adaptation dans les zones à potentiel agricole limité. Elle représente une des sources de revenus, d'alimentation et d'emploi les plus importantes pour ces petits paysans. Pour les cultivateurs les plus pauvres de la zone andine, elle peut constituer 70% de leurs ressources monétaires et apporter 600 kg de nourriture par an. Le travail que demande l'établissement de la culture ainsi que son entretien et sa récolte représente une source d'emploi constante. La pomme de terre revêt donc une importance non négligeable au niveau alimentaire, agronomique et économique en Bolivie (CRESPO VALDIVIA et BELLOT KALTEIS, 2004).

4 RÉACTIONS DES PLANTES AUX STRESS HYDRIQUE ET THERMIQUE

Des facteurs environnementaux tels que la sécheresse, les inondations ou de températures extrêmes peuvent parfois changer de manière importante et menacer la survie, la croissance et la reproduction des plantes (CAMPBELL, 2004).

Lorsqu'on parle de stress hydrique, il peut aussi bien s'agir d'un excès d'eau que d'une carence en eau. Les inondations sont un exemple d'excès d'eau. Celles-ci provoquent généralement une réduction de l'apport d'oxygène aux racines. Ce manque d'oxygène limite la respiration, l'absorption des nutriments et d'autres fonctions racinaires importantes. Le stress de déficit hydrique est plus fréquent et de ce fait, on abrège souvent l'expression à stress hydrique (HOPKINS, 2003). Lors de journées chaudes et sèches, la plante perd de l'eau par transpiration plus rapidement qu'elle peut en absorber par les racines et elle souffre alors d'un manque d'eau (CAMPBELL, 2004).

Pour chaque plante, il existe une température optimale de croissance et de développement. Cette température se situe entre des limites supérieures et inférieures. Lorsque les températures sont proches ou dépassent ses limites, la croissance de la plante diminue ou s'annule. Le froid, le gel ou des températures élevées sont les trois types de températures qui peuvent entraîner un stress chez la plante (HOPKINS, 2003).

Lors d'épisodes de sécheresse, la plante tente de préserver ses réserves en eau en limitant sa transpiration. Le manque d'eau entraîne une perte de turgescence des cellules stomatiques provoquant la fermeture des stomates et ainsi un ralentissement de la transpiration. En situation de déficit hydrique, la synthèse et la sécrétion de l'acide abscissique par les feuilles augmentent. Cette hormone permet le maintien des stomates en position fermée. La croissance des jeunes feuilles est également inhibée, les feuilles s'enroulent pour réduire la surface foliaire et il y a abscission et sénescence des feuilles plus âgées. Cette diminution de la surface foliaire réduit aussi la perte d'eau par transpiration. Ces réponses permettent à la plante de conserver son eau mais elles affectent aussi la photosynthèse ce qui entraîne une diminution du rendement des cultures. Les racines sont également touchées par le manque d'eau. La croissance des racines de surface est inhibée ; par contre les racines profondes prolifèrent afin de puiser l'eau disponible dans les couches inférieures du sol (CAMPBELL, 2004 ; HOPKINS, 2003).

Lors d'inondations, le manque de dioxygène entraîne la production d'éthylène. Cette hormone provoque l'apoptose c'est-à-dire une mort cellulaire programmée. Les cellules détruites forment des tubes aériens qui amènent l'oxygène aux racines sous eau (CAMPBELL, 2004).

Une plante tente de déjouer les effets d'une température élevée grâce à la transpiration qui permet le refroidissement par vaporisation. Mais ce refroidissement par vaporisation peut être limité par la fermeture des stomates dans un but de préservation de l'eau. Au dessus d'une certaine température, beaucoup de végétaux des régions tempérées produiraient des protéines de choc thermique qui enveloppent les enzymes et les autres protéines pour empêcher leur dénaturation (CAMPELL, 2004 ; HOPKINS, 2003).

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Lorsque les températures extérieures sont basses, la fluidité des membranes cellulaires diminue. Cela a effet sur le transport des solutés à travers les membranes et sur les fonctions des protéines membranaires. Les plantes répondent au froid en modifiant la composition lipidique de leurs membranes. La concentration en acides gras augmente favorisant ainsi la fluidité à basses températures. Ces modifications prennent un certain temps c'est pourquoi une diminution brutale des températures est plus dommageable pour les plantes que diminution progressive. Lorsque la température se situe près du point de congélation, il y a formation de glace dans les parois des cellules et les espaces intercellulaires. La formation de glace abaisse le potentiel hydrique extracellulaire, l'eau sort du cytosol et la concentration en sels de la cellule augmente. Cela peut entraîner la mort de la cellule c'est pourquoi, avant l'hiver, certaines plantes augmentent la concentration cytosolique de certains de leurs solutés dont les cellules tolèrent bien les concentrations élevées (glucides par exemple) (CAMPBELL, 2004).

5 LE CHANGEMENT CLIMATIQUE

Le réchauffement climatique est désormais une réalité et plusieurs observations telles que l'augmentation des températures atmosphériques et océaniques, la fonte des glaces ou l'élévation du niveau des mers le prouvent (PACHAURY et REISINGER, 2007). Parmi la population actuelle âgée de moins de 33 ans, 64% des individus en verront et subiront les conséquences d'ici 2050 (AMAT Y LÉON, 2008). Entre 1995 et 2006, 11 années ont été enregistrées comme étant parmi les douze plus chaudes jamais connues depuis qu'il est possible de mesurer la température à la surface du globe. D'après le rapport d'évaluation du GIEC (groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat), la température moyenne de la planète a augmenté de 0,74°C de 1906 à 2005 et le niveau moyen de la mer de 17 cm (PACHAURY et REISINGER, 2007).

Dans les deux prochaines décennies, on prévoit une augmentation de la température moyenne mondiale de 0,2°C par décennie. On estime également que cette température pourrait augmenter entre 1,8°C et 4°C des années 1980 à la fin de notre siècle et que l'élévation du niveau de la mer pourrait être de 18 cm à 59 cm sur cette même période (PACHAURY et REISINGER, 2007).

Ces changements auront de nombreux impacts sur les systèmes naturels. Des modifications des précipitations et de la fonte des glaces pourraient engendrer des inondations dans certaines régions et en exposer d'autres à des sécheresses importantes. Si ces changements sont trop brusques et importants, la capacité d'adaptation des écosystèmes sera dépassée (PACHAURY et REISINGER, 2007).

Il y a deux types de réponses au changement climatique. La première est « l'atténuation » qui consiste à faire tout ce qui est en notre pouvoir afin de réduire les émissions de gaz à effet de serre pour ralentir ou stopper le processus de réchauffement. La seconde est « l'adaptation » qui consiste à mettre en place des actions afin de réduire les effets du changement climatiques sur les systèmes ou populations. Il est impératif que nous apprenions à faire face aux modifications engendrées par le réchauffement climatique car certaines de celles-ci sont inévitables et même si l'on arrivait à stopper les émissions de gaz à effet de serre, les effets se feraient encore sentir plusieurs années. Il est de toute façon évident que ce processus est très lent au vue des enjeux politiques, industriels et individuels qui entrent en

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

compte. La mise en place des moyens d'atténuation se fait selon la volonté de chacun de ces intervenants. L'atténuation et l'adaptation sont donc complémentaires (REID et HUQ, 2007).

Les populations pauvres des pays en développement, dont les émissions sont souvent moins élevées que les pays développés, sont souvent les plus vulnérables face à ces perturbations car leurs moyens de subsistance dépendent très souvent directement du climat et ils ont plus de difficultés à s'adapter. Le point important à défendre est donc l'adaptation, c'est-à-dire la mise au point de techniques permettant de contourner les impacts du changement climatique (PACHAURY et REISINGER, 2007 ; REID et HUQ, 2007).

6 LE CHANGEMENT CLIMATIQUE DANS LES ANDES ET L'ALTIPLANO

Dans la région andine, on remarque les effets du changement climatique depuis déjà 3 décennies. Alors que l'on parle d'une augmentation de la température moyenne mondiale de 0, 2°C par décennie, celle-ci fut déjà de 0,34°C par décennie dans les Andes centrales de 1974 à 1998 c'est-à-dire 70% de plus que la moyenne mondiale (AMAT Y LÉON, 2008).

Il se produit des catastrophes naturelles de plus en plus fréquentes. Les événements météorologiques aux conséquences néfastes enregistrés au niveau mondial au cours des années 2000 à 2005 étaient 2,4 fois plus nombreux que ceux recensés au cours de la période allant de 1970 à 1999. Ce constat est similaire dans les Andes, ainsi, de 2002 à 2006, il a été dénombré le double de catastrophes naturelles par rapport aux années 1977-1981 (AMAT Y LÉON, 2008).

Selon les estimations, en 2025, les dégâts économiques engendrés par ces catastrophes dans les pays de la communauté andine représenteraient une perte approximative de 30 000 millions de dollars par année et pourraient compromettre le potentiel de développement de tous les pays de la région (AMAT Y LÉON, 2008).

Plus particulièrement, en Bolivie, La Paz a été victime d'un orage de grêle intense en 2002 qui a occasionné 70 millions de dollars de pertes. Entre 1992 et 2005 le glacier Chacaltaya, vieux de 18 000 ans, a perdu 90% de sa superficie et 97% de son volume, alors que les scientifiques prévoient sa disparition complète pour 2015 (FIGURE 9) (AMAT Y LÉON, 2008). En ce mois de juillet 2010, la Bolivie a également été touchée par une vague de froid polaire. Alors que l'hiver y est généralement sec, des fortes pluies, des vents intenses et de violentes chutes de neige se sont abattus sur la zone interandine. Ce froid a même touché la zone, généralement plus chaude, de Santa Cruz (TIMBERT, 2010).

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

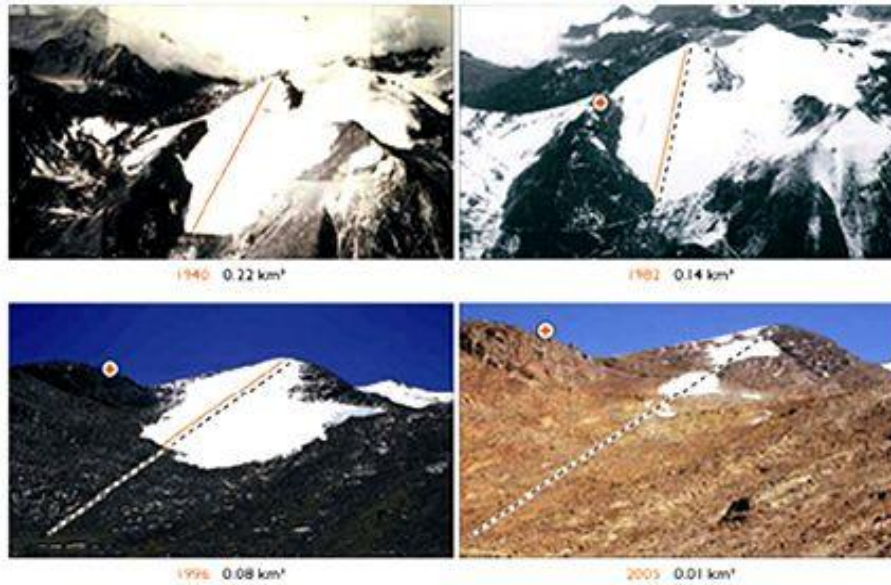


Figure 9: Retrait du glacier Chacaltaya (Source: Edson Ramirez, 2009)

L'agriculture est l'une des activités les plus sensibles aux changements climatiques car elle dépend en grande partie de paramètres climatiques et météorologiques. Un réchauffement supérieur à 2,5°C pourrait réduire l'offre alimentaire mondiale et provoquer dans ce cas une augmentation des prix des aliments. Les variations de températures et de précipitations affecteraient directement les cycles de cultures et conduiraient à des troubles physiologiques dus à l'exposition à des températures hors du seuil autorisé, à des déficits hydriques et à des réactions aux nouvelles concentrations en CO₂ atmosphérique (modification de l'assimilation du CO₂ et de la photosynthèse...). L'apparition de nouveaux ravageurs et maladies ainsi que des modifications de la disponibilité des nutriments dans le sol seraient d'autres conséquences de ces changements climatiques (PORTER et al, 1991 ; WATSON et al, 1997).

Pour la pomme de terre, par exemple, l'augmentation de température conduit à une transpiration accrue des plantes et donc à une demande plus forte en eau. Cela provoque un stress hydrique, encore aggravé par le changement dans la répartition des précipitations tombant sur des périodes de temps plus courtes mais de manière beaucoup plus intense. Tout cela entraîne une dégradation de la base productive et une réduction de la période de culture auxquelles la plupart des variétés traditionnelles de pommes de terre cultivées par les agriculteurs de la région andine ne sont pas adaptées. Cela cause une réduction drastique des rendements et parfois même une perte totale de la production (STAÜBLI et al, 2008).

Le changement climatique pourrait augmenter la pression des ravageurs et maladies sur la production de pommes de terre mais également mettre en danger ses parents sauvages. D'après STAÜBLI et al (2008), d'ici 2055, 16 à 22 % des variétés sauvages pourraient disparaître. Cela représenterait une perte catastrophique car elles représentent un réservoir génétique d'une importance capitale pour l'élaboration de nouvelles variétés.

Depuis quelques années, dans certaines régions de Bolivie, le début de la saison des pluies est plus tardif et n'apparaît qu'en décembre (alors qu'auparavant elle commençait en octobre), mais elle se

CHAPITRE II : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

termine toujours vers le mois de mars. Les variétés traditionnelles ne sont pas adaptées à cette période de culture raccourcie et leurs rendements en pâtissent.

Jusqu'à présent les agriculteurs tentaient de palier ces pertes en cultivant plusieurs espèces et variétés de pommes de terre sur la même parcelle afin d'assurer leur sécurité alimentaire. Mais il devient urgent de développer de nouvelles variétés mieux adaptées aux changements climatiques, résistantes à certains stress abiotiques aujourd'hui plus importants comme la chaleur ou la sécheresse et tolérant des périodes de végétation plus courtes (STAÜBLI et al, 2008).

Hijmans (2003) a étudié l'effet du changement climatique sur la production globale de pommes de terre grâce à des modèles de simulations et a prédit une diminution de la production de 20 à 30 % dans les pays tropicaux et subtropicaux d'ici la période 2040-2069. Mais il affirme que les conséquences pourraient être minimales et même positives dans les zones de hautes altitudes si on combine des mesures d'adaptation comme une modification de la période de semis ou des lieux de production et l'utilisation de variétés plus tardives et tolérantes ou résistantes pour certains facteurs climatiques.

D'après le docteur Jorge Rojas de PROINPA² : « l'extraordinaire diversité de pommes de terre dans les Andes est la clé du succès pour la culture de nouvelles variétés, mieux adaptées aux multiples défis du changement climatique, et contribuera à garantir la survie des petits cultivateurs de pommes de terre ».

Dans le même sens on peut compléter cette idée par les propos (recueillis par Stäubli et al, 2008) du centre international de la pomme de terre au Pérou (CIP³) : « Vu le rendement élevé de la pomme de terre par unité de surface et de temps, vu aussi son importance en tant que plante vivrière et source de revenu, augmenter la tolérance de ce tubercule aux différents stress peut grandement contribuer à la sécurité économique et alimentaire, à la réduction de la pauvreté et à l'atténuation des risques dans des environnements agricoles vulnérables. »

² Docteur Jorge A. Rojas-Beltran, Ph. D. Docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique. Responsable du laboratoire de Biologie Moléculaire, Fondation PROINPA, Cochabamba-Bolivie

³ Centro Internacional de la Papa, Lima: Pérou, dont le but est de réduire la pauvreté et d'atteindre un niveau de sécurité alimentaire de base dans les pays en développement par la recherche scientifique concernant la pomme de terre, la patate douce et d'autres racines et tubercules et par l'amélioration de la gestion des ressources naturelles dans les Andes et les autres régions montagneuses.

III MATÉRIEL ET MÉTHODES

1 INTRODUCTION

Dans ce chapitre, les méthodes ainsi que le matériel utilisé pour répondre aux objectifs cités au chapitre I sont énumérés et expliqués en détails. Il est divisé en trois parties : Tout d'abord, les enquêtes réalisées chez les agriculteurs des régions de Llallagua et Cariquina Grande (1), ensuite, l'évaluation en serre de 154 variétés de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse (2) et enfin la mise au point et le test d'une nouvelle méthode d'extraction d'ADN (3). Les parties (1) et (2) ont été exclusivement réalisées en Bolivie tandis que pour la partie (3) des tests ont été réalisés à la fois dans les laboratoires de biologie moléculaire de PROINPA (Bolivie) et de l'Unité de Phytotechnie tropicale et d'Horticulture de Gembloux Agro Bio-Tech (Belgique).

2 ENQUÊTES CHEZ LES AGRICULTEURS DE DEUX RÉGIONS DE L'ALTIPLANO BOLIVIEN

2.1 ZONES D'ÉTUDE

Les deux communautés concernées se nomment respectivement Llallagua et Cariquina Grande.

Llallagua se trouve dans le département de Potosi, la province de Rafael Bustillo et la municipalité de Llallagua. Cette communauté se trouve à 3 873 m d'altitude et ses coordonnées géographiques sont les suivantes : latitude de 18° 25' 12'' Sud et longitude de 66° 34' 48'' Ouest (FIGURE 10). Les variétés de pommes de terre qui y sont cultivées sont réparties en trois groupes variétaux : « Wayk'us », « Phiñus » et « Luk'is ». Le premier groupe reprend des variétés à cuisson rapide qui se cuisinent avec la peau. Les types variétaux appartenant au « Phiñus », par contre, peuvent être épluchés avant cuisson tandis que ceux appartenant au groupe « Luk'is » sont destinés à la transformation en chuño (TERRAZAS et al, 2008).

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES



Figure 10: Carte montrant la localisation des 2 communautés où ont été interrogés les agriculteurs

Cariquina Grande, quant à elle se situe dans le département de La Paz, la province de Camacho et la municipalité de Mocomoco. Son altitude est de 3 988 m et elle est localisée à une latitude de 15° 31' 50'' Sud et une longitude de 69° 3' 34'' Ouest (FIGURE 10). Les pommes de terre indigènes cultivées dans cette région sont réparties dans sept groupes variétaux : Munti (aussi appelé Munta ou Monda), Qhati, Luk'i, Pala (aussi appelé Pawla ou T'alpa), Axawiri, Polo et Mixa. La communauté de Cariquina Grande cultive près de 70 variétés de pommes de terre appartenant à ces différents groupes (FIGURE 11) (IRIARTE et al, 2009).

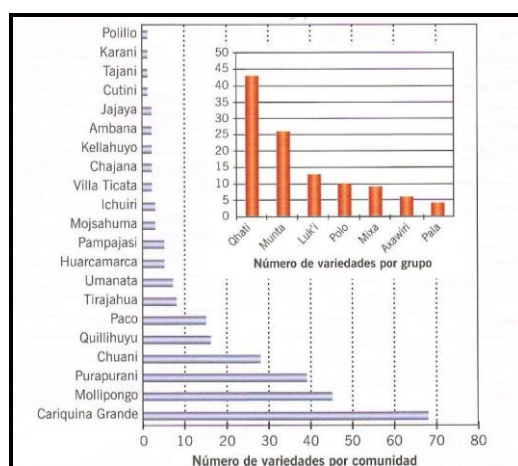


Figure 11: Nombre de variétés par communautés et par groupe variétal (de l'Altiplano Nord- La Paz) (Source: Iriarte et al, 2009)

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.2 ÉLABORATION DU QUESTIONNAIRE

Afin de connaître la perception des agriculteurs des régions citées au point précédent en ce qui concerne le changement climatique et les impacts qu'il engendre au niveau de la culture de pommes de terre, un questionnaire (ANNEXE 1) a été mis au point. Il a été créé avec l'aide de Willman Garcia⁴, Victor Iriarte⁵, Ximena Cadima⁶ et le Docteur Rojas dans un souci de simplicité. En effet, le but était de réaliser un questionnaire compréhensible par les paysans, avec du vocabulaire adapté et des questions simples et faciles à traduire en Aymara ou Quechua lors de l'interview. Nous avons tenté de balayer un maximum du sujet en un minimum de questions vu le peu de temps que nous avons à notre disposition lors des rencontres avec les cultivateurs.

Les points abordés dans ce questionnaire sont les suivants :

- L'apparition de modifications du climat ou non.
- Les éléments climatiques ayant le plus changé récemment et comment.
- Les éléments climatiques affectant le plus la culture de la pomme de terre, à quel moment du cycle, leurs bénéfices et avantages.
- Les variétés de pommes de terre les plus résistantes au gel, à la sécheresse et aux excès d'eau.
- Les indicateurs naturels permettant de prévoir le climat ou l'évolution de la culture.
- Les actions mises en place pour lutter contre les différents phénomènes climatiques.
- Les souhaits des agriculteurs vis-à-vis des institutions dirigeantes.

2.3 INTERVIEWS

Les interviews auprès des agriculteurs de la région de Llallagua ont été réalisées le jeudi 25 mars 2010 et le vendredi 26 mars 2010 lors d'un cycle d'ateliers et de conférences concernant les bio fertilisants et le changement climatique donnés pour et par les paysans de la communauté de Llallagua et des communautés environnantes. Les questions étaient posées aux interlocuteurs de manière individuelle par l'intermédiaire de Victor Iriarte qui assurait la traduction du quechua en espagnol. Les réponses étaient, quant à elles, transcrites de manière synthétique.

Des informations susceptibles de compléter et d'étayer les réponses fournies par les cultivateurs, ont également été recueillies lors des conférences données par ces derniers.

En ce qui concerne Cariquina Grande, les questionnaires ont été soumis aux agriculteurs lors d'une visite effectuée dans la communauté par l'équipe de Bruno Condori⁷. Les questions ont été posées aux concernés lors d'une entrevue privée entre le cultivateur, Bruno Condori ou un de ses collègues,

⁴ Ingénieur Agronome, service des ressources génétiques, PROINPA, Cochabamba.

⁵ Ingénieur Agronome, service des ressources génétiques, PROINPA, Cochabamba

⁶ Ingénieure Agronome, coordinatrice du service des ressources génétiques, PROINPA, Cochabamba.

⁷ Docteur en Sciences agricoles, biologiques et environnementales, service systèmes de production, PROINPA, La Paz.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

assurant la traduction de l'Aymara à l'Espagnole, et moi-même. Comme pour les enquêtes précédentes, les réponses ont été retranscrites de manière concise.

2.4 TRAITEMENT DES DONNÉES

Pour chaque communauté, un tableau comparatif des réponses données par les quatre agriculteurs a été réalisé (ANNEXE 2 et 3). Ces réponses ont été comparées et un résumé des informations apportées par ces 4 interlocuteurs a été effectué pour chaque thème abordé (question générale) afin d'obtenir la perception générale des agriculteurs par communauté. Un thème regroupe généralement les réponses à plusieurs questions posées dans le questionnaire.

Les informations recueillies lors des conférences données par les agriculteurs à Llallagua ont également été résumées.

Les données climatiques de Llallagua fournies par Victor Iriarte ont été analysées (ANNEXES 4 et 5). Il s'agit de données de précipitations (mensuelles, maximales/mois, journalières/mois) et de températures (maximales, minimales et moyennes/ mois) pour les années 2002 à 2009. Un graphique montrant l'évolution de la température moyenne au cours du temps pour chaque année (2002-2009) a été réalisé. Le même genre de graphique a été réalisé pour les précipitations mensuelles.

3 ÉVALUATION D'ACCESSIONS DE POMMES DE TERRE INDIGÈNES POUR LEUR TOLÉRANCE À LA SÉCHERESSE

3.1 SITE EXPÉRIMENTAL

L'évaluation d'accessions de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse a été réalisée à Cochabamba en Bolivie dans une serre appartenant à la fondation PROINPA (FIGURE 12). Cette évaluation a été supervisée et encadrée par les membres du service de biologie moléculaire et de bioinformatique, plus particulièrement le Docteur Jorge Rojas et Fidel Cortez⁸.



Figure 12: Serre appartenant à la Fondation PROINPA dans laquelle a été réalisée l'expérimentation (Cochabamba, 2010)

⁸ Ingénieur agronome, assistant de laboratoire au service de biologie moléculaire et bioinformatique, PROINPA, Cochabamba.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Parallèlement à cette évaluation, des travaux concernant la oca, l'arachide et la pomme de terre sylvestre ont également été conduits dans cette serre.

3.2 MATÉRIEL VÉGÉTAL ET MISE EN PLACE DU DISPOSITIF

Le matériel végétal utilisé provient de la banque nationale de tubercules et racines de Bolivie. Il s'agit en particulier de 154 accessions de pommes de terre indigènes (ANNEXE 6). Une accession, ou entrée, représente un échantillon de plantes conservées en ex situ et identifiées par un numéro d'accession.

Pour chaque accession, quatre tubercules (répétitions) ont été plantés, le 31 décembre 2009, dans des pots en plastique noir d'une capacité de 2 litres de substrat. Un pot vide à un poids d'environ 100 g. Lorsque ce contenant est rempli d'un litre de terre sèche sans plante, il pèse environ 500 g, tandis que ce même pot porté à capacité de champ, a un poids d'environ 830 g. Le substrat utilisé contenant 50 % de tissus végétaux et 25 % d'enveloppes de riz, avait un pH de 6,4 et a été au préalable stérilisé (FIGURE 13).



Figure 13: Substrat et pots utilisés pour la plantation des tubercules. (Photo de M. Fidel Cortez, Décembre 2009)

Chaque pot a été rempli d'environ 1 litre de substrat et numéroté comme suit : nombre de 1 à 154 correspondant à l'accession / chiffre de 1 à 4 correspondant à la répétition (ANNEXE 6). Ces pots ont été disposés sur cinq tables en ordre croissant de numérotation à partir de l'entrée et par groupe de 3 répétitions. Les cinq tables étaient disposées parallèlement jusqu'au bout de la serre et la dernière table se situait un peu plus à l'ombre que les 4 autres tables (FIGURE 14).

entrée serre			mur serre																
			15/4	14/4	13/4	12/4	11/4	10/4	9/4	8/4	7/4	6/4	5/4	4/4	3/4	2/4	1/4		
			16/4	17/4	18/4	19/4	20/4	21/4	23/4	24/4	25/4	26/4	27/4	29/4	30/4	31/4	32/4		
			33/4	34/4	35/4	36/4	37/4	38/4	39/4	40/4	41/4	44/4	45/4	46/4	47/4				
			49/4	50/4	53/4	55/4	56/4	57/4	58/4	59/4	60/4	61/4	62/4	63/4	64/4	65/4	66/4		
			83/4	81/4	80/4	79/4	78/4	77/4	76/4	75/4	74/4	73/4	72/4	70/4	69/4	68/4	67/4		
			84/4	85/4	86/4	87/4	88/4	89/4	91/4	92/4	93/4	94/4	96/4	99/4	101/4	102/4	103/1		
			104/4	105/4	106/4	108/4	109/4	110/4	111/4	112/4	113/4	114/4	115/4	116/4	117/4	119/4	120/4		
			136/4	134/4	133/4	132/4	131/4	130/4	129/4	128/4	127/4	126/4	125/4	124/4	123/4	122/4	121/4		
			137/4	138/4	139/4	140/4	141/4	142/4	143/4	144/4	145/4	146/4	147/4	148/4	149/4	150/4	151/4		
																	152/4	153/4	
Table arachide et Oca																			
Table 1																			
18/1	17/1	16/1	15/1	14/1	13/1	12/1	11/1	10/1	9/1	8/1	7/1	6/1	5/1	4/1	3/1	2/1	1/1		
18/2	17/2	16/2	15/2	14/2	13/2	12/2	11/2	10/2	9/2	8/2	7/2	6/2	5/2	4/2	3/2	2/2	1/2		
18/3	17/3	16/3	15/3	14/3	13/3	13/3	11/3	10/3	9/3	8/3	7/3	6/3	5/3	4/3	3/3	2/3	1/3		
		19/3	20/3	21/3	22/3	23/3	24/3	25/3	26/3	27/3	28/3	29/3	30/3	31/3	32/3	33/3	34/3		
		19/2	20/2	21/2	22/2	23/2	24/2	25/2	26/2	27/2	28/2	29/2	30/2	31/2	32/2	33/2	34/2		
		19/3	20/1	21/1	22/1	23/1	24/1	25/1	26/1	27/1	28/1	29/1	30/1	31/1	32/1	33/1	34/1		
Table 2																			
49/1	48/1	47/1	46/1	45/1	44/1	43/1	42/1	41/1	40/1	39/1	38/1	37/1	36/1	35/1					
49/2	48/2	47/2	46/2	45/2	44/2	43/2	42/2	41/2	40/2	39/2	38/2	37/2	36/2	35/2					
49/3	48/3	47/3	46/3	45/3	44/3	43/3	42/3	41/3	40/3	39/3	38/3	37/3	36/3	35/3					
50/3	51/3	52/3	53/3	54/3	55/3	56/3	57/3	58/3	59/3	60/3	61/3	62/3	63/4	64/3					
50/2	51/2	52/2	53/2	54/2	55/2	56/2	57/2	58/2	59/2	60/2	61/2	62/2	63/2	64/2					
50/1	51/1	52/1	53/1	54/1	55/1	56/1	57/1	58/1	59/1	60/1	61/1	62/1	63/1	64/1					
Table 3																			
79/1	78/1	77/1	76/1	75/1	74/1	73/1	72/1	71/1	70/1	69/1	68/1	67/1	66/1	65/1					
79/2	78/2	77/2	76/2	75/2	74/2	73/2	72/2	71/2	70/2	69/2	68/2	67/2	66/2	65/2					
79/3	78/3	77/3	76/3	75/3	74/3	73/3	72/3	71/3	70/3	69/3	68/3	67/3	66/3	65/3					
80/3	81/3	82/3	83/3	84/3	85/3	86/3	87/3	88/3	89/3	90/3	91/3	92/3	93/3	94/3					
80/2	81/2	82/2	83/2	84/2	85/2	86/2	87/2	88/2	89/2	90/2	91/2	92/2	93/2	94/2					
80/1	81/1	82/1	83/1	84/1	85/1	86/1	87/1	88/1	89/1	90/1	91/1	92/1	93/1	94/1					
Table 4																			
109/1	108/1	107/1	106/1	105/1	104/1	103/1	102/1	101/1	100/1	99/1	98/1	97/1	96/1	95/1					
109/2	108/2	107/2	106/2	105/2	104/2	103/2	102/2	101/2	100/2	99/2	98/2	97/2	96/2	95/2					
109/3	108/3	107/3	106/3	105/3	104/3	103/3	102/3	101/3	100/3	99/3	98/3	97/3	96/3	95/3					
110/3	111/3	112/3	113/3	114/3	115/3	116/3	117/3	118/3	119/3	120/3	121/3	122/3	123/3	124/3					
110/2	111/2	112/2	113/2	114/2	115/2	116/2	117/2	118/2	119/2	120/2	121/2	122/2	123/2	124/2					
110/1	111/1	112/1	113/1	114/1	115/1	116/1	117/1	118/1	119/1	120/1	121/1	122/1	123/1	124/1					
Table 5																			
139/1	138/1	137/1	136/1	135/1	134/1	133/1	132/1	131/1	130/1	129/1	128/1	127/1	126/1	125/1					
139/2	138/2	137/2	136/2	135/2	134/2	133/2	132/2	131/2	130/2	129/2	128/2	127/2	126/2	125/2					
139/3	138/3	137/3	136/3	135/3	134/3	133/3	132/3	131/3	130/3	129/3	128/3	127/3	126/3	125/3					
140/3	141/3	142/3	143/3	144/3	145/3	146/3	147/3	148/3	149/3	150/3	151/3	152/3	153/3	154/3					
140/2	141/2	142/2	143/2	144/2	145/2	146/2	147/2	148/2	149/2	150/2	151/2	152/2	153/2	154/2					
140/1	141/1	142/1	143/1	144/1	145/1	146/1	147/1	148/1	149/1	150/1	151/1	152/1	153/1	154/1					

Figure 14: Plan du dispositif expérimental pour l'évaluation de 154 accessions pour leur tolérance à la sécheresse (Source : Jaunard D., 2010)

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES



Figure 15: Disposition des pots en serre (Photo de M. Fidel Cortez, Décembre 2009)

À mon arrivée, le 4 février 2010, le dispositif était déjà mis en place et les plantes mesuraient en général entre 7 et 15cm.

Pour chaque accession, la quatrième répétition (c'est-à-dire le quatrième tubercule) a été déplacée en début de serre et rangée au sol afin de servir de témoin, le 19 février 2010 (FIGURE 15).

Un litre de substrat a été ajouté à chaque pot le 22 février 2010 afin de porter à 2 litres la quantité totale de substrat à la disposition de chaque plante

Les plantes ont été tuteurées le vendredi 26 mars 2010 et le lundi 1^{ier} mars 2010 afin que qu'elles ne s'entremêlent pas du fait du peu d'espace.

Les températures maximum et minimum ont été relevés chaque jour et durant toute la période d'évaluation afin d'avoir une idée des fluctuations de températures de la serre (ANNEXE 7).





3.3 EVALUATION DES PLANTES

Pour tester la tolérance à la sécheresse de ces 154 accessions, une évaluation qualitative a été réalisée sur une période d'environ quatre semaines. Cette évaluation se basait sur une échelle de cotation (I) allant de 0 à 5, chaque niveau décrivant l'état général de la plante et de son feuillage (TABLEAU 1) (FIGURE 16).

Tableau 1: Echelle de cotation I pour l'évaluation des accessions pour leur tolérance à la sécheresse.

Cotation	Etat	Photo
0	Plante égale au témoin	
1	Plante légèrement fanée et/ou jaunissement naissant et/ ou dessiccation des feuilles et/ou nécrose de l'extrémité des feuilles et/ ou perte de feuilles	

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

2	Plante fanée à 50% et/ou jaunissement modéré et/ou dessiccation des feuilles et/ou nécrose de l'extrémité des feuilles et/ou perte de feuilles	
3	Plante fanée à 75 % et/ou jaunissement avancé et/ou dessiccation des feuilles et/ou nécrose de l'extrémité des feuilles et/ou perte de feuilles	
4	Plante fanée à 100 % et/ou jaunissement total (excepté des tiges) et/ou dessiccation totale (excepté des tiges) et/ou nécrose totale de l'extrémité des feuilles et/ou perte totale des feuilles	
5	Plante morte	




CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES



Figure 16: Echelle I d'évaluation de l'état général et du feuillage de la plante, cotation de 1 à 5 (Tableau 1) (Cochabamba, 2010)

Durant la dernière semaine d'expérimentation, une seconde évaluation qualitative basée sur la couleur et l'état de dessèchement de la tige a été ajoutée à la première. Une appréciation générale allant de A à D était donnée (TABLEAU 2) (FIGURE 17).

Tableau 2: Echelle de cotation II pour l'évaluation des accessions pour leur tolérance à la sécheresse

Cotation	Etat	
A	Tige verte portant encore des feuilles vertes	
B	Tige verte et turgescente mais dont la plupart des feuilles sont fanées	
C	Tige légèrement desséchée et jaunâtre	

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

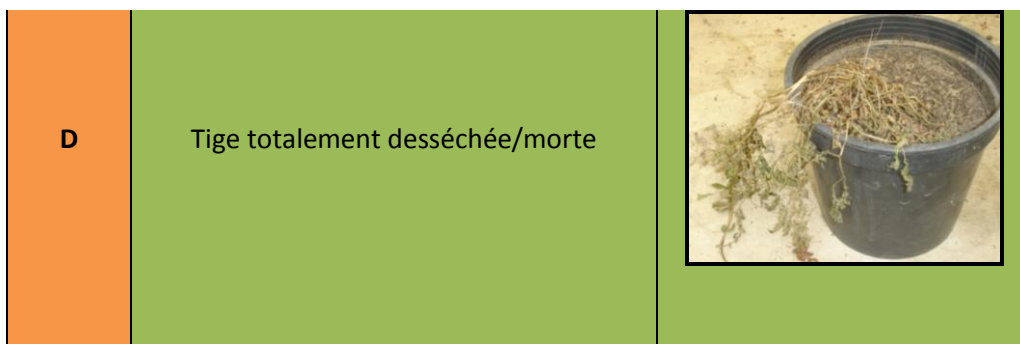


Figure 17: Echelle II d'évaluation du dessèchement des tiges, cotation de A à B (Tableau 2) (Cochabamba, 2010)

Lors de ces 4 semaines d'évaluation, chaque plante a été pesée deux fois par semaine. Le but de cette manœuvre était d'évaluer à quelle vitesse le substrat se desséchait et comment l'eau était utilisée par les plantes. Le poids des plantes a été mesuré à l'aide d'une balance dynamométrique « Escalis » d'une précision de 5 g et pouvant peser un maximum de 20 kilos (FIGURE 16). Un pot plus grand que ceux utilisés pour les pommes de terre a été suspendu à la balance et celle-ci a été mise à zéro (FIGURE 18). Ensuite les pots contenant chaque répétition ont été placés dans ce système et leur poids a été relevé.



Figure 18: (gauche) Balance Dynamométrique Escalis (Max: 20 kg, précision 5kg), (droite) Système employé pour la pesée. (Cochabamba, 2010)

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'expérimentation a débuté le mardi 16 mars 2010, l'ensemble de plantes ont été arrosées à capacité de champs c'est-à-dire qu'elles ont reçu le maximum d'eau que le substrat pouvait absorber. La première évaluation concernant l'état du feuillage a eu lieu le lendemain et les plantes ont également été pesées. Par la suite chaque plante a été évaluée et pesée à intervalle régulier suivant un calendrier des activités précis (TABLEAU 3). Les observations relatives à l'échelle I ont été effectuées lors des évaluations n° 1 à 11 et les pesées ont été réalisées lors des évaluations n°1, 3, 5, 6, 8, 9, 10 (7 évaluations).

Tableau 3: Calendrier des activités de l'expérimentation concernant l'évaluation de 154 accessions de pommes de terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse

lundi 15 mars 2010	mardi 16 mars 2010	mercredi 17 mars 2010	jeudi 18 mars 2010	vendredi 19 mars 2010	samedi 20 mars 2010	dimanche 21 mars 2010
	arrosage à capacité de champ	évaluation 1: pesée et observations selon l'échelle I		évaluation 2: observations selon l'échelle I		
lundi 22 mars 2010	mardi 23 mars 2010	mercredi 24 mars 2010	jeudi 25 mars 2010	vendredi 26 mars 2010	samedi 27 mars 2010	dimanche 28 mars 2010
évaluation 3: pesée et observations selon l'échelle I		évaluation 4: observations selon l'échelle I		évaluation 5: pesée et observations selon l'échelle I		
lundi 29 mars 2010	mardi 30 mars 2010	mercredi 31 mars 2010	jeudi 1 avril 2010	vendredi 2 avril 2010	samedi 3 avril 2010	dimanche 4 avril 2010
évaluation 6: pesée et observations selon l'échelle I		évaluation 7: observations selon l'échelle I		évaluation 8: pesée et observations selon l'échelle I		
lundi 5 avril 2010	mardi 6 avril 2010	mercredi 7 avril 2010	jeudi 8 avril 2010	vendredi 9 avril 2010	samedi 10 avril 2010	dimanche 11 avril 2010
évaluation 9: pesée et observations selon les échelles I et II		évaluation 10: pesée et observations selon les échelles I et II réarrosage des plantes stressées				
lundi 12 avril 2010	mardi 13 avril 2010	mercredi 14 avril 2010	jeudi 15 avril 2010	vendredi 16 avril 2010	samedi 17 avril 2010	dimanche 18 avril 2010
		évaluation 11: observations selon les échelles I et II				

L'état des tiges a également été considéré lors des trois dernières évaluations (n° 9, 10 et 11). Le mercredi 7 avril 2010, l'ensemble des plantes stressées ont été arrosées et évaluées une dernière fois une semaine plus tard (14 avril 2010) afin d'observer si certaines plantes étaient capables de reprendre.

Les témoins, quant à eux, ont été arrosés de manière régulière tout au long de l'expérimentation.

3.4 TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Les données de poids, d'échelles I et II, collectées pour chaque individu au cours des 11 évaluations (11 évaluations pour l'échelle I, 3 évaluations pour l'échelle II et 7 évaluations pour le poids), ont été encodées dans une matrice de données et analysées de manière statistique afin de mettre en évidence les accessions plus résistantes ou plus sensibles à la sécheresse.

Une analyse de la variance pour 2 critères de classification a été réalisée à l'aide du logiciel Minitab 15. Le modèle utilisé était croisé et fixe. Cette analyse a été effectuée pour chaque type d'observation à savoir l'échelle I, l'échelle II et le poids. Les facteurs qui ont été pris en compte sont l'accession (qualitatif, fixe, 154 objets) et le temps (qualitatif, fixe, 3, 7 ou 11 objets). Une structuration des moyennes a ensuite été réalisée pour ces mêmes types d'observations afin de mettre en évidence les accessions possédant des moyennes différentes de l'ensemble des accessions c'est-à-dire un comportement différent face au manque d'eau et donc une tolérance ou une sensibilité plus prononcée à la sécheresse.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des analyses de correspondance multiples et une analyse en composantes principales ont également été effectuées sur les observations concernant l'échelle I à l'aide du programme SAS afin de confirmer les résultats obtenus par l'analyse de la variance. Le type de données qualitatives, obtenues sur base de l'échelle définie pour ce travail, étant du même type que les données obtenues lors des analyses morphologiques suivant une table de descripteurs morphologiques publiées par des organismes internationaux tels que Biodiversity International (anciennement IPGRI), nos données relatives à la tolérance/sensibilité à la sécheresse chez la pomme de terre ont été analysées selon les mêmes méthodes que dans les travaux de Malice et al. 2007, notamment.

4 MISE AU POINT ET TEST D'UNE NOUVELLE MÉTHODE D'EXTRACTION DE L'ADN ET COMPARAISON AVEC LA MÉTHODE CTAB

4.1 LABORATOIRES EN BOLIVIE

4.1.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Le matériel végétal testé en laboratoire provient de la banque nationale de tubercules et racines de Bolivie. Parmi les 154 accessions évaluées en serre pour leur tolérance à la sécheresse, 32 ont été sélectionnées en fonction de leur sensibilité au virus Y de la pomme de terre (PVY) et aux nématodes (*Globodera pallida* (Stone)) (ANNEXE 8).

Le PVY est un des virus les plus répandus pour la culture de pommes de terre mais également pour d'autres Solanacées telles que la tomate ou le tabac. Il est transmis par le puceron et peut engendrer des pertes de rendement importantes (KASAI et al, 2000). Les symptômes associés à la présence de ce pathogène sont la nécrose des nervures, l'apparition de tâches, le jaunissement et le dessèchement des feuilles, le nanisme ou la mort prématurée des plantes. Lorsque ce virus est transmis à la plante par un puceron, il s'y répand totalement, des tubercules aux graines (OTTOMAN et al, 2009).

Le nématode, *Globodera pallida*, influence fortement les rendements en pommes de terre. Ses effets dépendent du degré de tolérance des variétés de pommes de terre et de l'interaction avec les facteurs environnementaux tels que la sécheresse (SMIT et VAMERALI, 1998).

4.1.2 RÉCOLTE DU MATÉRIEL VÉGÉTAL

Pour chaque plante, 5 à 8 feuilles jeunes et tendres ont été collectées sur les témoins et placées dans des sacs en plastique identifiés par la date de collecte, le numéro d'identification de l'accession, le numéro en serre ainsi que le numéro de répétition. La récolte des échantillons a été réalisée avec des gants et ces derniers ont été désinfectés à l'éthanol entre chaque plante afin qu'il n'y ait aucune contamination possible. Les sacs contenant les feuilles ont été placés dans un bac de frigolite rempli de glace afin que le matériel végétal ne se dégrade pas et emmenés au laboratoire. Les deux types d'extraction ont été opérées sur du matériel végétal frais. Les prélèvements restants ont été placés à -20°C en vue, éventuellement, d'une nouvelle extraction.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.1.3 EXTRACTION DE L'ADN

4.1.3.1 Méthode du bromure d'hexadécyltriméthylammonium (CTAB)

L'extraction de l'ADN par la méthode CTAB a été réalisée suivant les protocoles de PROINPA, eux-mêmes basés sur la technique mise au point par Doyle et Doyle en 1990.

Les échantillons des 32 accessions sélectionnées ont été moulus à l'azote liquide à $-179,9\text{ °C}$ à l'aide d'un pilon et d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. À cette température la désoxyribonucléase (DNase) est inactive et il n'y a pas de dégradation de l'ADN. Environ 200 mg de la poudre obtenue pour chaque échantillon ont été transférés dans un tube Eppendorf.

Dans chaque tube Eppendorf, ont été ajoutés 700 μl de tampon d'extraction. Ce tampon d'extraction est composé de tampon CTAB 2X⁹ (bromure d'hexadécyltriméthylammonium) et de β -mercaptoéthanol.

L'ensemble des échantillons ont été incubés au bain-marie à 65 °C durant 45 minutes et agités doucement toutes les 10 minutes.

Après incubation, 700 μl de chloroforme ont été ajoutés dans tous les tubes qui ont, ensuite, été mélangés vigoureusement durant 5 minutes afin de former une émulsion homogène.

Les échantillons ont été centrifugés à 10 000 tours par minute et une température de 4 °C durant 5 minutes.

À la sortie de la centrifugeuse, le surnageant contenant les nucléotides a été prélevé et transféré dans un nouveau tube Eppendorf. L'ajout de chloroforme, l'agitation et la centrifugation ainsi que la séparation des phases ont été répétés une seconde fois.

Un volume d'isopropanol similaire (400 μl) à celui de la phase aqueuse a été ajouté à cette dernière. Les tubes ont alors été agités et retournés délicatement afin de faire précipiter l'ADN et centrifugés à température ambiante à 10 000 tours par minute durant 5 minutes.

Afin d'éliminer les sels, le culot a été lavé avec 400 μl d'éthanol 75 % froid et centrifugé durant 10 minutes à température ambiante et 10 000 tours par minute. Ces opérations de lavage à l'éthanol et de centrifugation ont été répétées une seconde fois.

L'éthanol a été éliminé et les tubes ont été laissés ouverts afin que le précipité d'ADN sèche.

Enfin, chaque précipité a été dissout dans 60 μl d'eau distillée et 0,6 μl de RNases (10 mg/ml) et incubé au bain-marie à 37 °C durant une heure.

La solution contenant l'ADN a été conservée à -20 °C jusqu'à utilisation.

⁹ Composition du tampon CTAB 2X : CTAB 2%, NaCl. 1,4 M, EDTA 0,1 M à pH 8,00, Tris HCl 1 M à pH 8,0, Polivinylpyrrolidone (PVP) 1%, eau distillée.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.1.3.2 Méthode FTA

L'extraction de l'ADN par la méthode FTA a été réalisée suivant le protocole présenté par Whatman (Whatman FTA protocol BD008).

La mise sur papier des échantillons a été effectuée en laboratoire.

Les cartes utilisées se nomment « cartes classiques FTA ». Ces cartes contiennent des produits chimiques qui lysent les cellules, dénaturent les protéines et protègent les acides nucléiques des nucléases, de l'oxydation et des dommages causés par les UV. Elles possèdent quatre emplacements circulaires pouvant accueillir chacun un échantillon. Une zone située dans le bas de la carte est réservée à l'identification des différents échantillons (FIGURE 19).



Figure 19: Cartes Classiques FTA - Papier Whatman

Pour chaque accession, une feuille, face inférieure vers le bas, a été placée au centre du cercle. La feuille a été couverte d'un morceau de parafilm et une pression de quelques secondes a été exercée sur celle-ci à l'aide d'un pilon (FIGURE 20).



Figure 20: Mise sur papier Whatman du matériel végétal

La feuille a été écrasée en veillant à ne pas endommager la matrice de la carte. Nous avons également vérifié que le tissu végétal était visible au verso de la carte afin d'être certain que suffisamment de matériel végétal avait été transféré sur la carte.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Après avoir laissé sécher les cartes durant minimum une heure à température ambiante, les disques pour l'analyse ADN ont été préparés. Il convient de noter qu'il est possible de conserver les cartes pendant plusieurs semaines (voire plusieurs mois) dans un environnement sec et sombre et avec un contrôle de l'humidité.

Pour chaque échantillon un disque de 2 mm ou 1,2 mm¹⁰ a été découpé à l'aide d'un punch de la marque Harris Uni-Core (FIGURE 21 et 22). Le disque découpé a ensuite été placé dans un tube Eppendorf. Le punch a été désinfecté à l'éthanol entre chaque échantillon afin d'éviter toute contamination.



Figure 21: Punchs Harris Uni-Core 2mm (noir) et 1,2mm (rouge) et tablette de découpe



Figure 22: Carte FTA dans laquelle ont été découpés des disques

Deux disques vierges ont également été découpés en plus de l'ensemble des échantillons afin de servir de contrôle positif et de contrôle négatif¹¹.

Selon le test, différents lavages du disque ont été effectués :

- Deux lavages à l'eau distillée, un ou deux lavages à l'éthanol et trois lavages au tampon TE⁻¹ (10 mM Tris HCL, 0,1 mM EDTA, pH 8.0). Un deuxième lavage à l'éthanol a été effectué lorsque le disque était encore vert et contenait encore beaucoup de chlorophylle pouvant inhiber la PCR.
- Trois lavages à l'eau distillée et trois lavages au tampon TE⁻¹.

Pour le lavage à l'eau, 200 µl de liquide ont été ajoutés dans chaque tube Eppendorf. Les tubes ont été légèrement agités durant 5 minutes. Ensuite, l'eau a été éliminée. Selon le test effectué¹² ce lavage à l'eau a été effectuée 2 ou trois fois.

¹⁰ En fonction du test effectué, voir 4.1.7

¹¹ Voir 4.1.5.2

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

200 µl d'éthanol ont été placés dans chaque tube. L'ensemble des échantillons ont été agités légèrement durant 5 min et ensuite l'éthanol a été éliminé. Cette étape n'a pas été réalisée ou a été effectué 1 ou 2 fois en fonction du type de test¹³.

Un lavage final au tampon TE⁻¹ (10 mM Tris HCL, 0,1 mM EDTA, pH 8.0) a été effectué par addition de 200 µl de ce tampon à chaque tube. Nous avons laissé agir le tout durant 5 minutes en agitant légèrement et le tampon a ensuite été éliminé. Cette étape a été répétée 2 ou 3 fois selon le type de test effectué¹⁴.

Les tubes ont été laissés ouverts afin que les disques sèchent.

Les disques secs ont été directement utilisés pour une PCR ou conservés au sec, à une température de 4°C à -20°C et à l'ombre durant une semaine maximum.

4.1.4 QUANTIFICATION DE L'ADN

Les échantillons d'ADN extraits par la méthode CTAB ont été quantifiés afin de travailler dans des conditions homogènes et de les diluer à des concentrations similaires.

La quantification de l'ADN a été réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose 2% (moyen) dans un tampon Tris-borate-EDTA 1X (TBE).

Le gel d'agarose était composé de 1,92g de poudre d'agarose et 96 ml de TBE 1X. Le tout a été chauffé au micro-onde jusqu'à l'obtention d'une solution translucide. La solution a été refroidie à 60°C et placée sur une plaque d'électrophorèse. Les peignes ont été ajoutés et le mélange a polymérisé pendant une demi-heure.

La plaque contenant le gel a été placée dans la cuve d'électrophorèse et cette dernière a été remplie de TBE 1X jusqu'à ce que le tampon submerge le gel de 0,5 cm.

Les puits du gel ont été chargés par une solution contenant 8 µl d'eau distillée, 1 µl de tampon de charge et 1 µl d'ADN. Certains puits ont également été remplis par le marqueur de poids moléculaire 10 000 pb de la société Eurogentec afin de servir de référence (FIGURE 22).

La migration a duré une heure, à un voltage constant de 80 V.

Après électrophorèse, le gel a été incubé durant 45 minutes dans un bain de bromure d'éthydiuim et les profils d'ADN ont ensuite été révélés sous UV.

L'estimation de la quantité d'ADN par bande a été réalisée par comparaison de l'intensité des spots lumineux produits par chaque échantillon sous UV et l'intensité des spots produits par le marqueur de poids moléculaire de référence (FIGURE 23).

¹² Voir 4.1.7

¹³ Voir 4.1.7

¹⁴ Voir 4.1.7

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

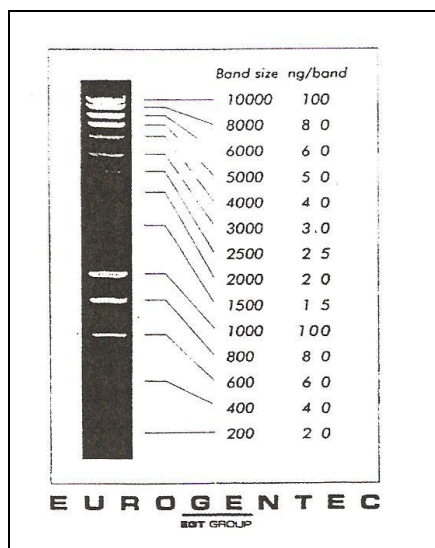


Figure 23: Marqueur de poids moléculaire de la société Eurogentec

Les échantillons d'ADN ont ensuite été dilués dans de l'eau distillée afin d'atteindre une concentration de 4 ng/ μ l.

4.1.5 AMPLIFICATION PAR PCR

Nous avons réalisé différentes PCR utilisant soit l'ADN extrait par la méthode CTAB, soit les disques FTA censés également contenir de l'ADN. Ces PCR ont été effectuées dans différents volumes réactionnels et avec plusieurs marqueurs moléculaires et microsatellites.

Le but final de ces différents tests était de prouver la présence d'ADN sur les disques FTA de par l'amplification de ce dernier lors de la PCR et de comparer les résultats à ceux obtenus lors de l'utilisation de la méthode CTAB, employée régulièrement dans les laboratoires de la fondation PROINPA.

Les protocoles utilisés lors de ces PCR sont ceux appliqués par la fondation PROINPA.

4.1.5.1 Marqueurs moléculaires

Un marqueur génétique est un « locus polymorphe qui renseigne sur le génotype de l'individu qui le porte » (DE VIENNE, 1998). On oppose généralement les marqueurs morphologiques (couleur, forme...) aux marqueurs moléculaires (ADN) et aux marqueurs biochimiques (isozymes, protéines...) (TAGU, 2003). Mais ceux qui nous ont le plus intéressés dans cette partie sont les marqueurs moléculaires.

Les marqueurs moléculaires sont en nombre illimité au niveau de l'ADN et indépendant du stade de développement ou de l'organe utilisé puisque l'ADN est identique dans chaque tissu. Ils peuvent être classés en deux grands types (TAGU, 2003) :

- les marqueurs codominants révélés individuellement, spécifiques de locus : Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), microsatellites ou Simple Sequence Repeat (SSR)

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

- les marqueurs dominants révélés « en masse » : Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Amplification Fragment Length Polymorphism (AFLP), Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR,...).

L'essor des marqueurs moléculaires a été facilité par le développement de la technique PCR (Polymerase Chain Reaction), qui permet d'amplifier in vitro une séquence d'ADN à partir d'une paire d'amorces oligonucléotidiques spécifiques et d'une enzyme ADN polymérase thermostable. La RAPD, les SSR ou microsatellites et l'AFLP sont les trois marqueurs associés à la technique PCR largement utilisés actuellement.

Pour les différents tests, les marqueurs moléculaires SCAR-RySC3 et HC ainsi que SSR-STM1104 ont été utilisés.

Le marqueur moléculaire RYSC3 est utilisé en sélection assistée par marqueur moléculaire (marker-assisted selection-MAS) pour mettre en évidence la présence du gène RY_{adg} lors de programme d'amélioration en pommes de terre. Ce gène RY_{adg} , présent sur le chromosome XI, confère aux variétés qui le possèdent une résistance au virus Y de la pomme de terre. (OTTOMAN et al, 2009)

Les génotypes porteurs des séquences candidates du marqueur RYSC3 possèdent le gène RY_{adg} .

Les amorces utilisées pour le marqueur RYSC3 sont les suivantes :

- 3.3.3s : 5' - ATA CAC TCA TCT AAA TTT GAT GG- 3'
- ADG23R: 5' – AGG ATA TAC GGC ATC ATT TTT CCG A-3

Le marqueur moléculaire HC est employé pour mettre en évidence la résistance de certaines variétés aux nématodes (*Globodera pallida*). Les amorces utilisées sont les suivantes :

- F : 5' -ACA CCA CCT GTT TGA TAA AAA ACT- 3'
- R : 5' – GCC TTA CTT CCC TGC TGA AG- 3'

Les marqueurs microsatellites correspondent à des séquences d'ADN comportant un motif de dinucléotides ou trinucleotides répétés plusieurs fois. Ils sont utilisés en pommes de terre pour des études de diversité, de structure génétique et classification, de séquençage, pour la création de collections... (GHISLAIN, 2008).

Le microsatellite utilisé dans notre cas est nommé SM1104 et ses amorces sont les suivantes :

- F : 5' – TGA TTC TCT TGC CTA CTG TAA TCG- 3'
- R : 5' –CAA AGT GGT GTG AAG CTG TGA- 3'

4.1.5.2 Amplification dans un volume réactionnel de 15 μ l

Pour la réalisation de la PCR d'un volume réactionnel de 15 μ l deux mélanges, 1 et 2, de respectivement 10 et 5 μ l ont été préparés par échantillon.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le mélange 1 contient du tampon PCR 10X, des d'NTPS, les amorces correspondant au marqueur et/ou microsatellite utilisé(s) et de l'eau distillée (TABLEAU 4). Il a été effectué pour le nombre d'échantillons à tester, majoré de 3 échantillons afin de compenser les erreurs de pipetage.

Tableau 4: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 15 µl)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 10µl)
Tampon PCR 10X	1X	1 µl
dNTPS 2mM c/u	0,2mM c/u	1 µl
Primer STM1104 10 pmol/µl	1pmol/µl	1 µl
H ₂ O		2 µl
(ADN extrait 4 ng	20 ng	5 µl)

Le mélange 2 contient du tampon PCR 10X, de la Taq polymérase, du crésol red et de l'eau distillée (TABLEAU 5). Il a été effectué pour le nombre d'échantillons majoré de 5 échantillons pour compenser les erreurs de pipetage. La Taq polymérase est ajoutée juste avant la répartition du mélange dans les puits de la plaque PCR car elle se dégrade à température ambiante.

Tableau 5: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 15 µl)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 5 µl)
H ₂ O	X	2,9 µl
Tampon PCR 10X	1X	0,5 µl
Cresol Red		1,5 µl
Taq polymérase	0,025 U/ µl	0,1 µl

Pour les PCR utilisant l'ADN extrait par la méthode FTA, les disques de papier Whatman, dont la préparation et le lavage ont été expliqués au point 4.1.3.2, ont été placés au préalable dans les puits de la microplaque PCR. Des disques vierges servant de contrôle positif et négatif ont également été ajoutés dans 2 puits supplémentaires.

Le contrôle positif est un disque vierge qui est lavé exactement de la même manière que les disques contenant des échantillons et auquel on ajoute de l'ADN connu lors de la PCR. Il permet de s'assurer que le disque n'inhibe pas la réaction.

Le contrôle négatif est un disque vierge qui est lavé exactement de la même manière que les disques contenant des échantillons. Il permet de s'assurer que le disque ne cause pas de résultat positif lors de la PCR.

Un volume de 5 µl de mélange 1 a été distribué dans chaque puits de la microplaque PCR.

Lors des tests sur ADN extrait par la méthode CTAB, 5 µl de cet ADN ont été ajoutés dans chaque puits contenant le mélange 1. En effet lors des tests avec ADN extrait par la méthode FTA, les disques sont déjà présents et on passe directement à l'étape suivante.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Une goutte d'huile minérale a été distribuée dans chaque emplacement de la microplaque PCR pour éviter tout problème d'évaporation.

Le mélange 2 a été ajouté au dernier moment à hauteur de 5 µl par échantillon en évitant de former des bulles.

La plaque a été recouverte d'un film plastique et placée dans un thermocycleur de type *PTC-100 Thermal cycler* (MJ Research) et le programme a été lancé.

Le programme suivant a été encodé dans la machine avec quelques différences en fonction des marqueurs moléculaires ou microsattellites utilisés :

- Un premier cycle de **dénaturation** qui permet de séparer les brins d'ADN à une température de **94°C** pendant **5 minutes**.
- La répétition des trois étapes suivantes 35 fois (35 cycles) :
 - Le maintien des échantillons à **94 °C** pendant **une minute (dénaturation)**.
 - L'**hybridation** des amorces à leurs séquences complémentaires. La température et la durée d'hybridation sont différentes selon les amorces utilisées (TABLEAU 6).

Tableau 6: Température d'hybridation et durée d'hybridation pour les amorces utilisées

Amorces	Température d'hybridation	Durée
RYSC3	65 °C (PROINPA)	45 secondes
HC	60°C (PROINPA)	60 secondes
STM1104	54°C (Ghislain et al, 2008)	30 secondes

- La **synthèse** de l'ADN par la Taq polymérase à une température de **72°C** durant **30 secondes**.
- Enfin, un cycle de 7 minutes à 72 °C permettant la finalisation de la synthèse de l'ADN.

4.1.5.3 Amplification dans un volume réactionnel de 25 µl

Pour certains tests sur ADN extrait par la méthode FTA, le volume de la PCR a été porté à 25 µl. Le protocole utilisé était identique à celui décrit au point 4.1.5.2 mais les quantités des différents réactifs présents dans chaque mélange ont été ajustées (TABLEAUX 7 et 8). Le volume de mélange 1 ajouté par échantillon était de 20 µl et le volume de mélange 2 était de 5 µl.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Tableau 7: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 25 µl)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 20µl)
Tampon PCR 10X	1X	2 µl
dNTPS 2mM c/u	0,2mM c/u	2 µl
Primer STM1104 10 pmol/µl	1pmol/µl	2 µl
H ₂ O		14 µl

Tableau 8: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés (pour un volume PCR final de 25 µl)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 5 µl)
H ₂ O	X	2,9 µl
Tampon PCR 10X	1X	0,5 µl
Cresol Red		1,5 µl
Taq polymérase	0,025 U/ µl	0,1 µl

4.1.6 ÉLECTROPHORÈSE ET LECTURE

Les produits PCR obtenus ont été visualisés sous UV après électrophorèse sur gel d'agarose et incubation du gel dans un bain de bromure d'éthidium.

Le protocole utilisé pour la réalisation du gel et de l'électrophorèse ainsi que pour l'incubation est identique à celui décrit au point 4.1.4. La seule différence réside dans la préparation chargée dans les puits du gel. La solution contient pour chaque échantillon 5 µl de produit PCR et 0,5 µl de tampon de charge.

La visualisation sous ultra-violet a permis de mettre en évidence l'amplification ou non de l'ADN extrait par chacune des méthodes d'extraction (CTAB et FTA) et de comparer leur fonctionnement.

4.1.7 TESTS EFFECTUÉS

Nous avons procédé à différentes essais avec pour but ultime de prouver le fonctionnement de la méthode d'extraction par papier Whatman et de procéder à une comparaison avec la méthode d'extraction CTAB utilisée couramment.

Le 9 avril 2010, une PCR (volume réactionnel de 15 µl) a été effectuée sur 31 échantillons d'ADN extraits par CTAB (ANNEXE 8) pour le marqueur RYSC3 et le microsatellite STM1104. Le but était de tester la qualité de l'ADN ainsi que des réactifs utilisés.

Le 12 avril 2010 une PCR (volume réactionnel de 15 µl) a été opérée sur 31 échantillons extraits par la méthode FTA (le 12 avril 2010) et lavés à l'eau, l'éthanol et au tampon, et 31 échantillons également extraits par la méthode FTA mais lavés uniquement à l'eau et au tampon (ANNEXE 8). Cette PCR a été effectuée pour le marqueur RYSC3 et le microsatellite STM1104 et les punches utilisés étaient de 2 mm. Le but était de mettre en évidence la présence d'ADN sur les disques et de comparer les deux types de lavage.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le 15 avril 2010, nous avons procédé à une PCR pour le marqueur RYSC3 et le microsatellite STM1104 sur 12 échantillons extraits par la méthode FTA (le 15 avril 2010) parmi les 32 accessions sélectionnées (ANNEXE 8). Les disques testés ont été découpés à l'aide de punchs de 1,2 mm et ont été lavés à l'eau, l'éthanol et au tampon. Lors de la même PCR, 12 échantillons extraits par la méthode CTAB et correspondant aux mêmes accessions que les 12 échantillons extraits par FTA, ont également été testés. Le volume réactionnel de la PCR a été porté à 25 µl pour les échantillons FTA et a été gardé à 15 µl pour les échantillons CTAB.

Le 22 avril 2010, une dernière PCR a été réalisée pour le marqueur HC et le microsatellite STM1104 sur les mêmes 12 échantillons testés le 15 avril 2010 et extraits par la méthode CTAB et par la méthode FTA (extraction le 15 avril 2010). Les disques utilisés avaient une taille de 1,2mm de diamètre et ont été lavés à l'eau, l'éthanol et au tampon. Le volume PCR des échantillons FTA était de 25 µl tandis que celui des échantillons CTAB était de 15 µl. La température d'hybridation utilisée lors de la PCR était celle de STM1104 (54°C).

4.2 LABORATOIRES EN BELGIQUE

4.2.1 MATÉRIEL VÉGÉTAL

Trois variétés de pommes de terre belges ont été testées :

- La variété Lady claire dont les feuilles ont été prélevées sur une parcelle située à Pont-à-Celles (Belgique). Il s'agit d'une variété de pommes de terre de consommation issue des Pays-Bas et utilisée principalement par l'industrie de la chips.
- La variété Fontane sur une parcelle située à Pont-à-Celles (Belgique). Cette pomme de terre est plus tardive et ses tubercules sont surtout utilisés pour la production de frites.
- La variété Bintje sur une parcelle située à Courcelles (Belgique). Il s'agit d'une variété de pommes de terre à chair ferme.

Un premier prélèvement et la mise sur carte a été effectué le mardi 29 juin 2010. Un deuxième prélèvement a été exécuté le dimanche 11 juillet 2010, et la mise sur carte a été faite le même jour.

En plus de ces 3 variétés, trois accessions boliviennes ont également été testées : il s'agit de Puka Ñawi BOL 3771 (n°25), Chiyar Alqa Imilla BOL 248 (n°25) et Ajahuri BOL 3716 (n°93). Les feuilles de ces accessions avaient été prélevées et mise sur carte le 15 avril 2010 en Bolivie.

4.2.2 EXTRACTION DE L'ADN

4.2.2.1 Méthode CTAB

L'ADN des 3 variétés de pommes de terre prélevées en Belgique a été extrait selon un protocole d'extraction CTAB¹⁵ similaire à celui utilisé en Bolivie. Seul le tampon d'extraction, le nombre de répétitions de chaque étape et les réactifs utilisés pour la dilution finale étaient différents.

¹⁵ Voir 4.1.3.1

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agissait d'un tampon d'extraction spécifique composé de Trisma Base 0,25 M, EDTA 0,050 M, CTAB 3%, NaCl 2,1M et Mercapto-éthanol 0,2%.

Les lavages au chloroforme et à l'éthanol n'ont été effectués qu'une seule fois.

La dilution du culot d'ADN a été faite dans 67 µl de tampon TE 1X (Tris 10 mM, EDTA 1mM) et 6 µl de RNase.

Pour chaque variété, deux extractions ont été réalisées.

4.2.2.2 Méthode FTA

La mise sur papier des feuilles prélevées a été réalisée en laboratoire suivant un protocole¹⁶ identique à celui-ci utilisé en Bolivie. Il en fut de même pour le découpage des disques à l'aide d'un punch de 1,2 mm.

Par contre, nous avons utilisé un nouveau réactif pour le lavage des disques. L'eau a été remplacée par un réactif de purification FTA (Whatman). Nous avons effectué 3 lavages au réactif de purification (3 X 200 µl), 1 lavage à l'éthanol (200 µl) et 3 lavages au tampon TE⁻¹ (3 X 200 µl) en suivant le même protocole que celui explicité au point 4.1.3.2.

4.2.3 QUANTIFICATION DE L'ADN

La quantification de l'ADN a été réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose et visualisation sous UV suivant le même processus¹⁷ que celui exécuté en Bolivie moyennant quelques modifications.

Un petit gel d'agarose de 1% a été réalisé à l'aide de 250 mg de poudre d'agarose et 25 ml de TBE 1X. La solution a été bouillie sur un agitateur magnétique chauffant. Ensuite, nous avons ajouté 3 µl de bromure d'éthydiu au mélange et nous l'avons agité délicatement avant de couler le gel dans la cuve et de le laisser polymériser pendant 30 minutes.

Les puits du gel ont été chargés avec 2 µl de bleu de bromophénol et 4 µl d'échantillon d'ADN. Un marqueur de poids moléculaire Smart Ladder a été utilisé comme référence.

Après migration le gel a été placé sous un transilluminateur UV et l'estimation de la quantité d'ADN par bande a été réalisée par comparaison de l'intensité des spots lumineux produits par chaque échantillon sous UV et l'intensité des spots produits par le marqueur de poids moléculaire de référence (FIGURE 23).

¹⁶ Voir 4.1.3.2

¹⁷ Voir 4.1.4

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

4.2.4 AMPLIFICATION PAR PCR

4.2.4.1 Microsatellites

L'amplification n'a été faite que pour le microsatellite STM1104. En effet, le but des tests n'était que de mettre en évidence l'amplification et non de tester les plantes pour leur résistance ou sensibilité à une maladie ou un parasite.

4.2.4.2 Amplification dans un volume réactionnel de 25 µl

L'amplification de 9 échantillons correspondants aux trois variétés prélevées en Belgique et extraites par méthode FTA (3 échantillons) et CTAB (2 X 3 échantillons) a été réalisée dans un volume PCR de 25 µl. Dans ce même volume, ont également été testés trois échantillons FTA provenant de variétés boliviennes¹⁸. Le protocole utilisé est le même que celui décrit au point 4.1.5.2 mais les concentrations et les quantités des réactifs ont été modifiées ainsi que le volume de mélange 1 ou 2.

Le volume de mélange 1 ajouté par échantillon FTA était de 20 µl (TABLEAU 9) et le volume de mélange 2 ajouté par échantillon FTA était de 5 µl (TABLEAU 10).

Tableau 9: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons FTA)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 20µl)
Tampon PCR 10X	1X	2 µl
dNTPS 10 mM c/u	0,2mM c/u	0,5 µl
Primer STM1104 R 10 pmol/µl	1pmol/µl	2,5 µl
Primer STL1104 F 10 pmol/µl	1 pmol/µl	2,5 µl
H ₂ O		12,5 µl

Tableau 10: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons FTA)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 5 µl)
H ₂ O	X	4,5 µl
Tampon PCR 10X	1X	0,5 µl
Taq polymérase 5U/µl	0,025 U/ µl	0,125 µl

Les volumes des mélanges 1 (TABLEAU 11) et 2 (TABLEAU 12) ajoutés aux échantillons CTAB étaient respectivement de 11,5 µl et 5 µl et le volume d'ADN extrait par CTAB de 8,5 µl.

¹⁸ Voir 4.2.1

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Tableau 11: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons CTAB)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 11,5µl)
Tampon PCR 10X	1X	2 µl
dNTPS 10 mM c/u	0,2mM c/u	0,5 µl
Primer STM1104 R 10 pmol/µl	1pmol/µl	2,5 µl
Primer STL1104 F 10 pmol/µl	1 pmol/µl	2,5 µl
H ₂ O		4 µl

Tableau 12: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 25 µl et les échantillons CTAB)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 5 µl)
H ₂ O	X	4,5 µl
Tampon PCR 10X	1X	0,5 µl
Taq polymérase 5U/µl	0,025 U/ µl	0,125 µl

Un contrôle négatif constitué d'un disque vierge lavé de la même manière que les autres disques a été ajouté ainsi qu'un contrôle négatif général où l'ADN extrait par CTAB a été remplacé par de l'eau distillée.

Le programme d'amplification utilisé était identique à celui décrit au point 4.1.5.2 pour le microsatellite STM1104.

4.2.4.3 Amplification dans un volume réactionnel de 50 µl

L'amplification de 9 échantillons correspondant aux trois variétés prélevées en Belgique et extraites par méthode FTA (3 échantillons) et CTAB (2 X 3 échantillons) a été réalisée dans un volume PCR de 50 µl. Dans ce même volume, ont également été testés trois échantillons FTA provenant de variétés boliviennes¹⁹. Le protocole utilisé est le même que celui décrit au point 4.1.5.2 mais les concentrations et les quantités des réactifs ont été modifiées ainsi que le volume de mélange 1 ou 2.

Le volume de mélange 1 ajouté par échantillon FTA était de 40 µl (TABLEAU 13) et le volume de mélange 2 ajouté par échantillon FTA était de 10 µl (TABLEAU 14).

Tableau 13: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 µl et les échantillons FTA)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 40µl)
Tampon PCR 10X	1X	4 µl
dNTPS 10 mM c/u	0,2mM c/u	1 µl
Primer STM1104 R 10 pmol/µl	1pmol/µl	5 µl

¹⁹ Voir 4.2.1

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Primer STL1104 F 10 pmol/μl	1 pmol/μl	5 μl
H ₂ O		25 μl

Tableau 14: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 μl et les échantillons FTA)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 10 μl)
H ₂ O	X	9 μl
Tampon PCR 10X	1X	1 μl
Taq polymérase 5U/μl	0,025 U/ μl	0,25 μl

Les volumes des mélanges 1 (TABLEAU 15) et 2 (TABLEAU 16) ajoutés aux échantillons CTAB étaient respectivement de 24 μl et 10 μl et le volume d'ADN extrait par CTAB de 16 μl.

Tableau 15: Composition du mélange 1 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 μl et les échantillons CTAB)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 24 μl)
Tampon PCR 10X	1X	4 μl
dNTPS 10 mM c/u	0,2mM c/u	1 μl
Primer STM1104 R 10 pmol/μl	1pmol/μl	5 μl
Primer STL1104 F 10 pmol/μl	1 pmol/μl	5 μl
H ₂ O		9 μl

Tableau 16: Composition du mélange 2 et concentrations des différents réactifs utilisés en Belgique (pour un volume PCR final de 50 μl et les échantillons CTAB)

Réactifs et []	[] Finale dans le mélange	Vol/éch. (Total : 10 μl)
H ₂ O	X	9 μl
Tampon PCR 10X	1X	1 μl
Taq polymérase 5U/μl	0,025 U/ μl	0,25 μl

Un contrôle négatif constitué d'un disque vierge lavé de la même manière que les autres disques a été ajouté ainsi qu'un contrôle négatif général où l'ADN extrait par CTAB a été remplacé par de l'eau distillée.

Le programme d'amplification utilisé était identique à celui décrit au point 4.1.5.2 pour le microsatellite STM1104.

4.2.5 ÉLECTROPHORÈSE ET LECTURE

Les produits PCR obtenus ont été visualisés sous UV après électrophorèse sur gel d'agarose. L'électrophorèse a été réalisée suivant un processus semblable à celui décrit au point 4.1.4 avec quelques petites modifications.

CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Un grand gel d'agarose de 2% a été réalisé par le mélange de 4 g de poudre d'agarose et 200 ml de TBE 1X. La solution a été bouillie sur un agitateur magnétique chauffant. Ensuite, 14 µl de bromure d'éthydiu ont été ajoutés au mélange. Ce dernier a été agité délicatement et avant d'être coulé dans la cuve afin de le laisser polymériser.

Nous avons ajouté 6 µl de bleu de bromophénol aux produits PCR dont le volume réactionnel était de 25 µl et 12 µl de bleu de bromophénol aux produits PCR dont le volume réactionnel était de 50 µl. Chaque puits du gel a été chargé avec 12 µl du mélange correspondant à chaque échantillon. Un marqueur de poids moléculaire Smart Ladder a été utilisé comme référence (5µl).

Après migration le gel a été placé sous un transilluminateur UV afin de visualiser s'il y avait eu amplification ou non.

4.3 COMPARAISON DES MÉTHODES D'EXTRACTION CTAB ET FTA

Une comparaison économique des deux méthodes a été réalisée. Pour chaque méthode le prix d'extraction d'un échantillon d'ADN a été calculé en tenant compte des réactifs, des tubes et des tips utilisés. Le calcul a d'abord été effectué pour 20 échantillons afin d'avoir un résultat représentatif car il est inconcevable de réaliser une électrophorèse sur gel d'agarose pour quantifier un échantillon. Le prix obtenu pour 20 échantillons a été ramené à un échantillon. Pour le calcul concernant la méthode CTAB, les réactifs utilisés pour la quantification ont été pris en compte car l'ADN extrait doit être obligatoirement quantifié pour être utilisé par la suite. Cette estimation de prix est très générale. En effet, elle pourrait être poussée beaucoup plus loin en considérant les coûts de personnel, d'électricité, d'utilisation des machines, d'usure...

Le matériel utilisé pour chaque type d'extraction a également été comparé.

Enfin les avantages et inconvénients de chaque méthode ont été listés.

5 PRINCIPAUX BIAIS ET DIFFICULTÉS RENCONTRÉS

Les communautés dans lesquelles ont été interrogés les agriculteurs, sont isolées et difficiles d'accès. C'est pourquoi j'ai dû profiter de voyages ou conférences organisés pour m'y rendre. De plus les agriculteurs ne s'exprimaient souvent qu'en Quechua ou Aymara et cela demandait constamment l'aide d'une tierce personne pour la traduction en espagnol. Du fait du peu de temps passé sur place et de l'obligation de m'adapter aux disponibilités des personnes m'accompagnant et m'aidant, je n'ai pu interroger que 4 agriculteurs dans chaque communauté. Cela donne une bonne idée de la perception générale des agriculteurs mais cela ne peut pas faire l'objet de véritables analyses statistiques ou du moins plus détaillées.

Il a été difficile d'expliquer correctement les questions et d'avoir des réponses précises de la part des agriculteurs du fait des traductions Quechua/Aymara-Espagnol (Français) et Espagnol-Quechua/Aymara et de ma maîtrise relative de la langue espagnole. De ce fait, il est parfois difficile de relier les indicateurs décrits par les agriculteurs à des plantes ou des animaux connus ou déjà étudiés ainsi qu'à leur nom latin. En effet, les paysans utilisent souvent des noms traditionnels méconnus du grand public.

Je n'ai, par ailleurs, pas su précisément à quelle espèce appartiennent les différentes accessions évaluées en serre. En effet, les agriculteurs classifient les variétés de pommes de terre qu'ils cultivent d'après 4 niveaux taxonomiques. Ils distinguent, premièrement, la pomme de terre des autres tubercules andins tels que la oca. Ils les classent également en espèces en fonction de leurs caractéristiques culturelles, de leur comestibilité et de leurs possibilités de transformation ainsi que de leur résistance à certains facteurs climatiques. Les agriculteurs andins utilisent aussi leurs propres noms variétaux et sous-variétaux basés sur une large gamme de caractéristiques morphologiques concernant surtout la couleur et la forme des tubercules mais aussi leur comestibilité et possibilités de transformation (CADIMA et al, 2003 ; BRUSH et al, 1981 ; ZIMMERER, 1991). Il aurait été intéressant de pouvoir lier les résultats obtenus à l'espèce concernée. Cela n'a pu être le cas.

L'objectif initial était d'évaluer 50 accessions pour leur tolérance à la sécheresse. Mais lors de mon arrivée en Bolivie, les accessions, au nombre de 154, étaient déjà disposées comme expliqué au point 3.2. Idéalement, il aurait été plus rigoureux de les placer selon un dispositif en blocs aléatoires complets, c'est-à-dire former 3 groupes dans chacun desquels une répétition de chaque accession soit disposée de manière aléatoire. Malheureusement, le manque de place et le nombre élevé d'accessions n'ont pas permis de les disposer de cette manière. De plus, une disposition en blocs aléatoires aurait rendu impossible l'évaluation des plantes en une seule journée.

Enfin, les témoins ayant subi certains stress (manipulation, excès d'eau...) au cours de l'expérimentation, les accessions prélevées pour les derniers tests de la méthode FTA ne s'élevaient plus qu'à 12 au lieu de 32. En effet, il n'était plus possible de prélever du matériel végétal sur une vingtaine des témoins concernés car les plantes étaient desséchées ou flétries. Les témoins n'ont pas été utilisés pour la mise en évidence des accessions les plus tolérantes à la sécheresse.

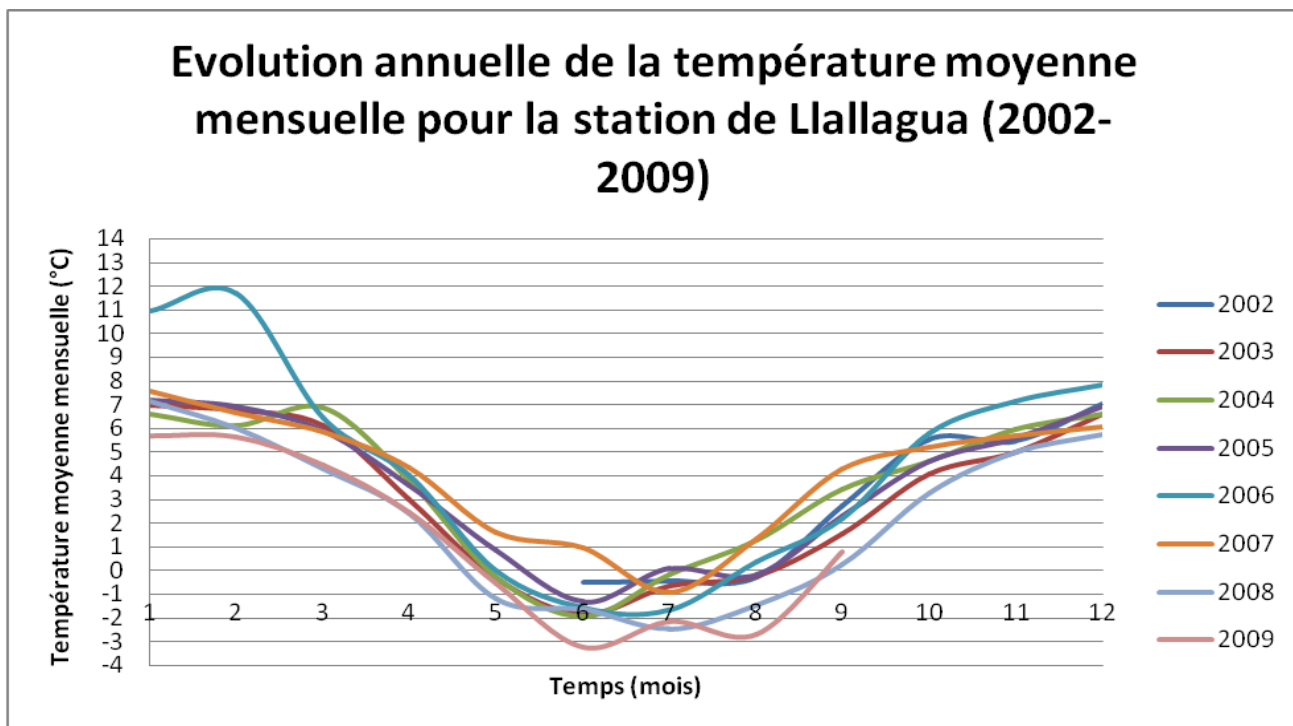


Figure 24: Graphique de l'évolution annuelle de la température moyenne mensuelle pour la station de Llallagua (2002-2009)

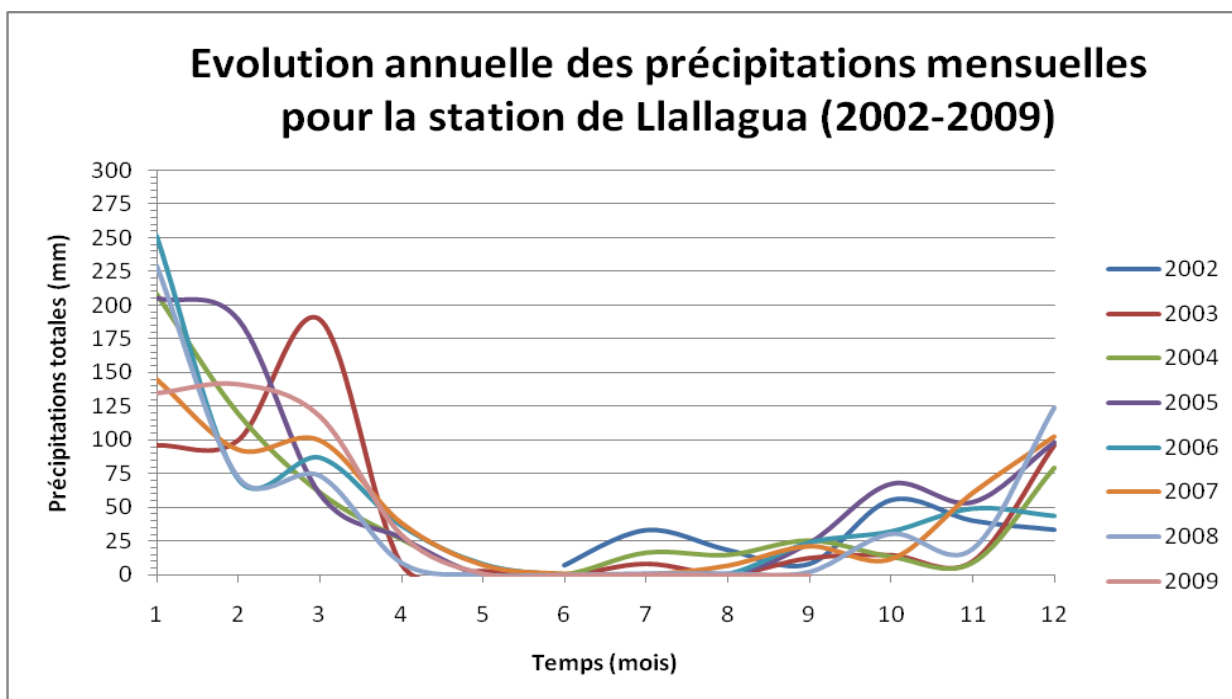


Figure 25: Graphique de l'évolution annuelle des précipitations mensuelles pour la station de Llallagua (2002-2009)

IV RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1 ENQUÊTES CHEZ LES AGRICULTEURS DE DEUX RÉGIONS DE L'ALTIPLANO BOLIVIEN

1.1 INTRODUCTION

Les deux régions étudiées ont été décrites dans les chapitres « revue bibliographique » et « matériel et méthodes ». Mais cette description a pu être complétée par l'analyse de données climatiques pour la station de Llallagua. Ces informations sont présentées au point 1.2.

Les points 1.3 et 1.4 fournissent un résumé des réponses données par les agriculteurs aux questions générales développées plus en détails dans le questionnaire.

Enfin, le point 1.5 donne la perception générale qu'ont les agriculteurs du changement climatique dans la région andine.

1.2 DONNÉES CLIMATIQUES DE LLALLAGUA

Dans la région de Llallagua la saison des pluies s'étend généralement de septembre-octobre à mars-avril (FIGURE 25). Les températures sont également plus élevées durant cette période avec une moyenne se situant entre 5 °C et 7°C (FIGURE 24).

On remarque que durant les hivers 2008 et 2009, les températures ont été beaucoup plus basses qu'à l'habitude. Elles ont également mis plus de temps à remonter. Le graphique 24 met également en évidence un pic de chaleur durant les mois de janvier et février 2006. Mais, en général, la courbe d'évolution des températures est assez similaire pour chaque année (FIGURE 24).

Les saisons des pluies 2003, 2004, 2008 ont débuté durant le mois de novembre alors que généralement cette saison commence début du mois septembre. Les précipitations de l'année 2007 sont également apparues avec un peu de retard, au courant du mois d'octobre (FIGURE 25). À partir du mois de janvier les précipitations diminuent progressivement ; pourtant au mois de mars 2003, on observe un pic de précipitations important. Si on consulte les données climatiques pour ce mois (ANNEXE 4), on constate que ces précipitations sont tombées en une seule fois. Cela a peut-être donné lieu à des inondations.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1.3 LLALLAQUA : THÈMES ET QUESTIONS GÉNÉRALES ABORDÉS

Les réponses données par les agriculteurs de Llallagua et des communautés voisines ont été résumées par thème. En effet, leurs réponses étaient généralement semblables et les questionnaires remplis pour cette région ne s'élevaient qu'au nombre de quatre, c'est pourquoi il ne m'a pas semblé opportun de faire intervenir les proportions des agriculteurs interrogés qui mentionnent ses différentes considérations. De plus, plusieurs questions donnaient lieu aux mêmes réponses, de ce fait les réponses ont été rapportées par thèmes.

Quels sont les éléments climatiques touchant le plus la pomme de terre, comment l'affectent-ils et à quelle étape de son développement ? (questions 2, 6,7 et 8)

- La grêle affecte la pomme de terre au moment de la floraison. Les grêlons sont aussi gros que des œufs d'oiseau et causent des dommages importants aux plantes.
 - Le gel affecte les pommes de terre au moment de la floraison ; il brûle les feuilles de la plante. En revanche, il peut être bénéfique pour la fabrication de Chuño.
 - La sécheresse affecte surtout la culture au moment de la floraison et de la tubérisation. Elle cause des diminutions de rendement importantes
 - Les pluies intenses sont préjudiciables à la culture de pommes de terre quand elles interviennent en fin de cycle car elles entraînent la pourriture des tubercules.
- Parmi les éléments climatiques cités, quels sont ceux qui ont le plus changé et qui se produisent le plus souvent et fortement (questions 2.1, 2.2, 2.5 et 2.6)
- La grêle et le gel
- Quels sont les actions réalisées pour lutter contre le gel, la grêle, la sécheresse et la pluie ?(questions 2.3, 2.4, 11 et 13)
- Pour lutter contre la grêle, les agriculteurs créent des grondements avec des pétards et de la dynamite. Ils allument des feus et enfument les cultures.
 - Pour lutter contre les pluies qui érodent le sol, ils disposent de la paille entre les plantes. Ils mettent également en place des digues de déviation formées par des arbres et arbustes.
 - Lors de sécheresse, ils tentent d'irriguer les parcelles.
- Quelles sont les variétés résistantes au gel, à la sécheresse et à l'excès de pluie ?(questions 3, 4 et 5)
- Gel : Luk'i, Runa papa, Aqawiri
 - Sécheresse : Runa papa, Manjana, Yana Imilla, Yana Runa, Aqawiri
 - Pluies : Yana imilla
- Quels sont les systèmes de gestion du sol utilisés pour les semis de pommes de terre en pampa, ladera et puna et comment ces semis ont-ils changé ces dernières années ? (questions 9 et 10)

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

- Dans la zone plane, les pommes de terre sont cultivées sur des parcelles nommées « mantas ». Les semis y sont réalisés de plus en plus tard.
 - En zone haute, les semis sont plus fréquemment soumis au gel et à la grêle qu'avant et ces éléments climatiques apparaissent de manière de plus en plus inattendue. La période de plantation des pommes de terre a été avancée et les agriculteurs effectuent des mélanges de variétés.
- Quels bioindicateurs sont utilisés par les agriculteurs pour prédire le temps et pour gérer les cultures ?(question 12)
- Les hurlements des renards annoncent le début des semis de pommes de terre.
 - Ils observent la floraison d'une plante nommée Muña. Lorsque celle-ci fleurit, les pommes de terre peuvent être plantées.
 - Les vents forts annoncent une pluie abondante.
 - La présence d'algues vertes dans les rivières prédit une bonne année culturale.
- De quels appuis venant des institutions, municipalités, préfectures et gouvernement ont besoin les agriculteurs ?(questions 16, 15 et 16)
- les agriculteurs aimeraient que les autorités leur fournissent les matériaux nécessaires pour lutter contre les éléments climatiques touchant leurs cultures. Il s'agit du matériel qu'ils utilisent régulièrement (dynamite, pétards) mais également des innovations telles que de nouvelles variétés résistantes et des matériaux pour construire des digues ou mettre en place des systèmes d'irrigation.
- Quels sont les points les plus importants pour les agriculteurs, parmi ceux cités à la question 17 (ANNEXE 1).
- Les effondrements et les inondations ainsi que l'érosion des sols par les pluies et la perte de nutriments de ces mêmes sols.
 - L'augmentation de l'intensité et la fréquence des sécheresses et des incendies
 - La réduction de la productivité agricole suite à des modifications des périodes de pluies (début et fin, intensité) ainsi qu'à l'apparition de nouveaux parasites et maladies.
 - La disparition de certains insectes bénéfiques ainsi que la perte de certaines variétés agricoles.
- Informations recueillies lors des conférences
- Le gel et la grêle sont de plus en plus fréquents.
 - La pluie et le gel apparaissent de façon de plus en plus irrégulière alors qu'auparavant ces éléments climatiques se présentaient à des périodes connues.
 - Les rivières s'assèchent et les crapauds disparaissent.
 - Les journées sont plus chaudes et les nuits plus froides.
 - les agriculteurs ont noté l'apparition de nouvelles maladies et de nouveaux parasites.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1.4 CARIQUINA GRANDE : THÈMES ET QUESTIONS GÉNÉRALES ABORDÉS

Les quatre questionnaires remplis par les agriculteurs de Cariquina Grande ont été traités identiquement à ceux de Llallagua et pour les mêmes raisons. Les éléments climatiques mis en cause et leurs effets sont semblables mais pas forcément cités dans le même ordre d'importance.

- Quels sont les éléments climatiques touchant le plus la pomme de terre, comment l'affectent-ils et à quelle étape de son développement ?(questions 2, 6,7 et 8)
 - La grêle cause des dommages importants aux plantes et les détruits.
 - L'insolation importante affaiblit les plantes et dessèche le sol. Les feuilles flétrissent et des maladies s'y développent. Lorsqu'il n'est pas trop intense, le soleil peut être bénéfique au développement de la plante.
 - Le gel brûle les cultures et les affecte fortement au moment de la floraison entraînant ainsi des pertes de production. Il fait néanmoins partie du processus de fabrication des pommes de terre déshydratées.
 - Les précipitations intenses intervenant au moment de la floraison provoquent le pourrissement des tubercules et le développement de nombreuses maladies. Elles emportent également le sol, les cultures et les chemins. En quantité raisonnables, par contre, la pluie est très bénéfique à la culture.

- Parmi les éléments climatiques cités, quels sont ceux qui ont le plus changé et qui se produisent le plus souvent et fortement (questions 2.1, 2.2, 2.5 et 2.6)
 - Les pluies étaient régulières et modérées avant mais, maintenant, elles surviennent de plus en plus et de manière intense voire torrentielle.
 - Le soleil est beaucoup plus intense qu'auparavant

- Quels sont les actions réalisées pour lutter contre le gel, la grêle, la sécheresse et la pluie ?(questions 2.3, 2.4, 11 et 13)
 - Les agriculteurs effectuent certains rituels faisant intervenir des offrandes de nourriture, de la musique...
 - Pour lutter contre le gel et la grêle, ils allument des feux et utilisent des pétards.
 - Ils tentent d'apporter de l'eau aux parcelles lors des sécheresses.

- Quelles sont les variétés résistantes au gel, à la sécheresse et à l'excès de pluie ?(questions 3, 4 et 5)
 - Gel : Luk'i, Ajahuiri
 - Sécheresse : Luk'i, Quellupuya
 - Pluies : Luk'i

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

- Quels sont les systèmes de gestion du sol utilisés pour les semis de pommes de terre en pampa, ladera et puna et comment ces semis ont-ils changé ces dernières années ? (questions 9 et 10)
 - La « pampa » est appelée « Sayaña », la « ladera » est appelée « Uyus » et la « puna » est appelée « Aynocas ».
 - Dans les trois zones, les semis ont été repoussés de septembre à octobre (voire novembre pour les « Aynocas ») car la saison des pluies est plus tardive et les températures sont plus élevées à ce moment là.

- Quels bioindicateurs sont utilisés par les agriculteurs pour prédire le temps et pour gérer les cultures ?(question 12)
 - Les agriculteurs observent la couleur des souris. Si elles sont blanches, cela prédit une bonne année culturale, par contre, si elles sont brunes, c'est de mauvais augure.
 - Ils tiennent également compte des hurlements du renard pour décider de planter les pommes de terre.
 - Si le *Tayakayu* (oiseau aux pieds froids) se pose sur les champs lors de la préparation du sol, cela annonce le gel.
 - Si l'*Aykamari*, un oiseau, se pose sur les champs, cela annonce une bonne année culturale.
 - Le comportement et l'apparence des crapauds et lézards sont également observés.
 - Des nuages noirs et une forte chaleur en journée annoncent des pluies intenses.
 - La floraison de la *Muña* (*Minthostachys mollis*(Kunth) Griseb.) et de la *Saucayu* prédit de bonnes productions.

- De quels appuis venant des institutions, municipalités, préfectures et gouvernement ont besoin les agriculteurs ? (questions 16, 15 et 16)
 - Les agriculteurs souhaiteraient recevoir un appui des autorités pour leurs rituels. Ils aimeraient également que l'on mette à leur disposition des semences résistantes et des produits permettant aux plantes de récupérer lorsqu'elles ont été frappées par un événement climatique. Les autorités pourraient également leur fournir du matériel pour protéger les parcelles contre les pluies ou les irriguer lors des sécheresses ainsi que mettre en place des stations météorologiques pour prédire le temps.

- Quels sont les points les plus importants pour les agriculteurs, parmi ceux cités à la question 17 (ANNEXE 1).
 - L'augmentation de l'intensité et la fréquence des sécheresses et des incendies.
 - La réduction de la productivité agricole suite à des modifications des périodes de pluies (début et fin, intensité) ainsi qu'à l'apparition de nouveaux parasites et maladies.
 - La disparition de certains insectes bénéfiques ainsi que la perte de certaines variétés agricoles.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

1.5 PERCEPTION GÉNÉRALE

Les principaux changements notés par les agriculteurs concernent la régularité, la fréquence et l'intensité des différents éléments climatiques.

La grêle, le gel, les pluies torrentielles, la sécheresse et l'intensité du soleil sont les éléments météorologiques qui ont été cités par les agriculteurs des deux communautés. Mais, pour la région de Llallagua, c'est en ce qui concerne le gel et la grêle que les plus grands changements ont été perçus. Par contre, pour les agriculteurs de Cariquina Grande, les modifications les plus fortes concernent les pluies, l'insolation et la sécheresse.

Les épisodes de précipitations sont de plus en plus irréguliers, intenses et fréquents. Des pluies torrentielles inondent et emportent les parcelles et chemins. Elles sont responsables de l'érosion du sol et de sa perte de fertilité. Elles entraînent des développements de pourriture au niveau des tubercules.

La saison des pluies commence plus tard dans l'année, cela pousse les agriculteurs à modifier leurs dates de semis et les plantations sont souvent repoussées au mois de novembre.

La grêle cause de sérieux dégâts aux cultures à cause de la taille importante des grêlons.

Le gel brûle les cultures. On note des écarts de températures importants entre la journée et la nuit. De plus, les hivers récents ont été assez rigoureux.

À côté des inondations, les cultures peuvent également souffrir de périodes de sécheresse plus ou moins longues.

Tous ces éléments touchent particulièrement la culture de la pomme de terre au moment de la floraison provoquant ainsi des pertes de rendements importantes.

La disparition de nombreuses espèces végétales, d'insectes bénéfiques et d'animaux indicateurs tels que le crapaud ainsi que l'apparition de nouvelles maladies et parasites sont des points qui préoccupent aussi les agriculteurs.

Pour faire face à ces changements, les agriculteurs se reposent surtout sur leur savoir traditionnel. Ils utilisent des techniques basiques (dynamite, feu) et des rites pour lutter contre ces éléments climatiques. Ils analysent aussi le comportement des animaux et le cycle végétatif de certaines plantes afin de prévoir le temps. Mais ils accueillent avec plaisir l'aide des autorités et des organismes compétents. Ils souhaiteraient qu'on les aide à se procurer les matériaux nécessaires à la protection des parcelles contre les pluies et sont d'accord d'apprendre de nouvelles techniques de gestion des cultures. Ils désirent qu'on leur fournisse des semences indemnes de maladies et qu'on les aide à choisir des variétés plus adaptées.

Toutes ces modifications climatiques sont clairement ressenties par les agriculteurs et ils tentent de tout mettre en œuvre afin de les contourner ou de s'y adapter. Mais il est quand même important de signaler que le changement climatique est un phénomène qui s'étudie sur de longues périodes. Les informations recueillies dans ce travail concernent principalement les dix dernières années et on ne

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

peut donc pas associer avec certitude toutes ces modifications de climat au changement climatique ; il peut s'agir d'années particulières et exceptionnelles.

2 ÉVALUATION D'ACCESSIONS DE POMMES DE TERRE INDIGÈNES POUR LEUR TOLÉRANCE À LA SÉCHERESSE

2.1 ANALYSE DE LA VARIANCE ET STRUCTURATION DES MOYENNES

2.1.1 OBSERVATIONS CONCERNANT L'ÉCHELLE I

Les conditions d'application du test ont été considérées comme respectées. Les 1 694 (154 accessions X 11 évaluations) populations sont considérées comme normales car, par combinaison de facteurs, il y a uniquement 3 observations et cela constitue une limite pour le test de normalité. De plus, vu le nombre de populations, le α sera très petit ($\alpha/1\ 694$). L'égalité des variances est également respectée car la P-value est égale à 1 et donc supérieure à 0,05 (ANNEXE 9).

L'analyse de la variance montre qu'il existe une interaction entre le facteur temps et le facteur accession (1) ($P < 0,05$ et égale à 0,04). Cela signifie que les accessions ont des formes de courbes différentes au cours du temps, c'est-à-dire que chaque accession ne se comporte pas de la même manière au cours du temps (TABLEAU 17). Chaque accession à réagit de manière différente face au manque d'eau. Dans notre cas, nous ne décomposons pas l'interaction.

Tableau 17 : Résultats de l'analyse de la variance pour l'échelle I

Analysis of Variance for échelle 1, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
accession	153	516,762	511,612	3,344	9,83	0,000 (3)
Temps	10	7192,039	7104,344	710,434	2089,50	0,000 (2)
accession*Temps	1530	583,670	583,670	0,381	1,12	0,004 (1)
Error	3324	1130,167	1130,167	0,340		
Total	5017	9422,637				

S = 0,583097 R-Sq = 88,01% R-Sq(adj) = 81,90%

La P-valeur inférieure à 0,05 du facteur temps(2) met en évidence un effet temps (TABLEAU 17). Ce qui est assez logique car si nous observons l'évolution de la moyenne générale de l'échelle I au cours du temps, nous voyons que l'ensemble des plantes tendent à mourir (FIGURE 26). Toute plante privée d'eau finira par mourir.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

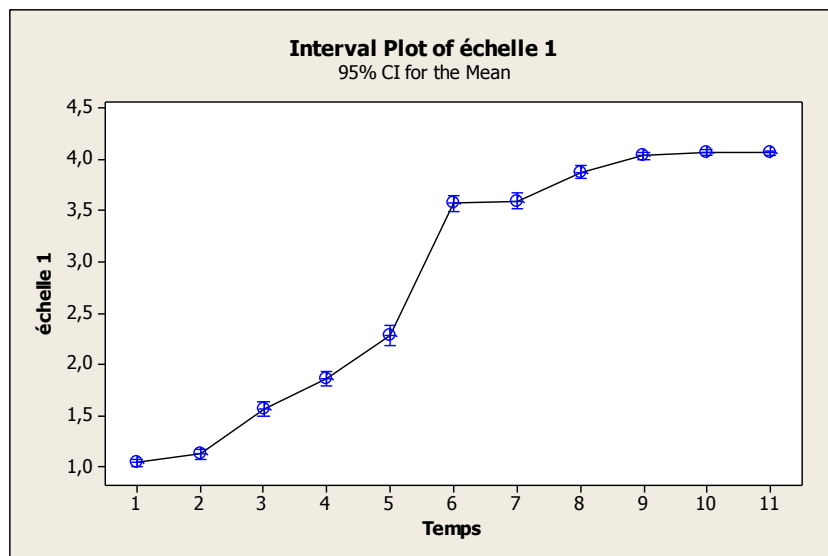


Figure 26: Evolution de la moyenne générale pour l'échelle I au cours du temps (11 évaluations)

Enfin, la P-valeur de 0,000 du facteur accession prouve l'effet « accession » (TABLEAU 17). En effet, les 154 accessions ont des moyennes différentes (indépendamment du temps) c'est-à-dire qu'elles ne se comportent pas de la même manière face au stress hydrique. Ces moyennes sont calculées à partir des observations recueillies pour les trois pots de chaque accession sur 11 évaluations (soit 33 observations par accession). Sur la figure 27, nous pouvons voir que la moyenne des observations concernant l'échelle I pour les 11 évaluations est différente pour chaque accession. Étant donné que les modalités de l'échelle I étaient discontinues (1 à 5), la moyenne est très globale. Nous pouvons supposer que les accessions qui possèdent une moyenne élevée sont mortes rapidement et qu'elles sont donc plus sensibles à la sécheresse. Inversement, les accessions possédant une moyenne basse, ont sans doute mieux supporté le manque d'eau, nous pouvons donc supposer qu'elles sont plus résistantes à la sécheresse.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

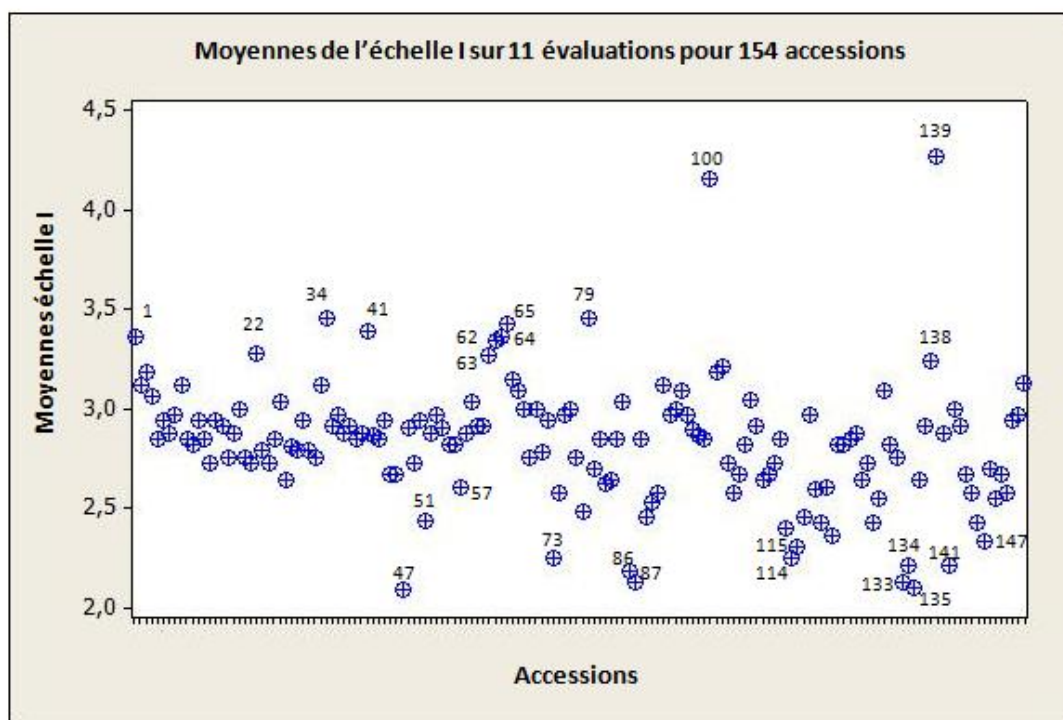


Figure 27: Moyennes de l'échelle I sur 11 évaluations pour 154 accessions

Les accessions semblant plus sensibles à la sécheresse portent le numéro en serre (ANNEXE 6) : 1, 22, 34, 41, 62, 63, 64, 65, 79, 100, 139, 138.

Les accessions semblant plus résistantes à la sécheresse portent le numéro en serre (ANNEXE 6) : 47, 51, 57, 73, 86, 87, 114, 115, 133, 134, 135, 141, 147.

Pour avoir une idée visuelle de l'évolution du comportement au cours des 11 évaluations d'accessions ayant une moyenne élevée, normale et basse, des graphiques de l'évolution au cours du temps de la moyenne pour l'échelle I (moyenne des 3 pots/répétitions pour chaque temps/évaluation) ont été réalisés (FIGURES 28, 29 et 30).

Les accessions 139 et 65, possédant une moyenne élevée, ont une courbe qui croit rapidement (FIGURE 28). Elles semblent mourir assez vite et être plus sensibles à la sécheresse. Les accessions ayant une moyenne similaire, énumérée ci-dessus, ont un comportement identique.

Les accessions 25 et 60, possédant une moyenne normale, ont une courbe qui croit principalement entre les évaluations 3 et 6 (FIGURE 29). Elles ont un comportement qu'on peut qualifier de « normal », c'est-à-dire qu'elles résistent au manque d'eau au début et puis meurent de manière progressive. Les accessions possédant une moyenne semblable aux accessions 25 et 60, se comportent de manière comparable à celles-ci.

Les accessions 134 et 47 possèdent une courbe qui croit seulement à partir de l'évaluation 5 (FIGURE 30). Elles semblent avoir survécu plus longtemps au manque d'eau que les autres accessions et donc être plus résistantes à la sécheresse. Sur base de ces graphiques, nous pouvons considérer que les

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

accessions ayant des moyennes similaires à celles des accessions 134 et 47, se comportent de la même manière.

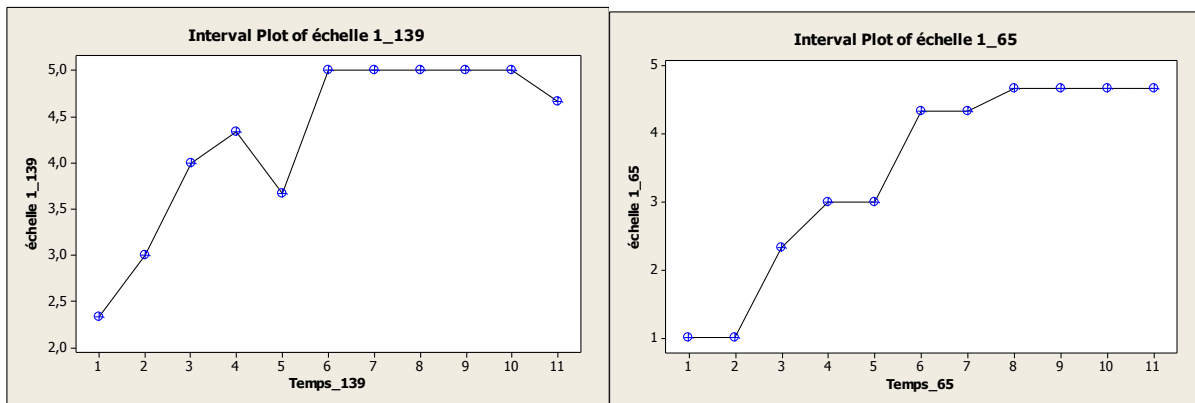


Figure 28: Evolution des moyennes pour l'échelle I des accessions 139 et 65 au cours des 11 évaluations

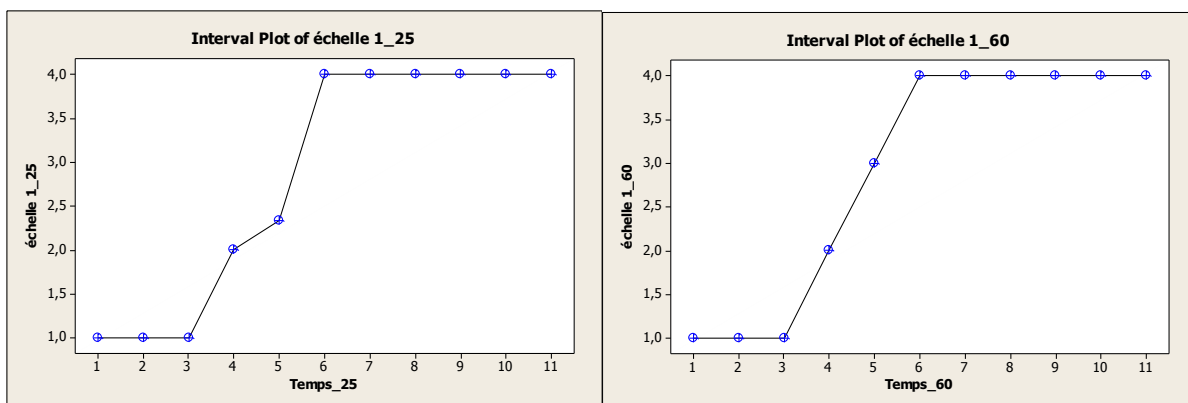


Figure 29: Evolution des moyennes pour l'échelle I des accessions 25 et 60 au cours des 11 évaluations

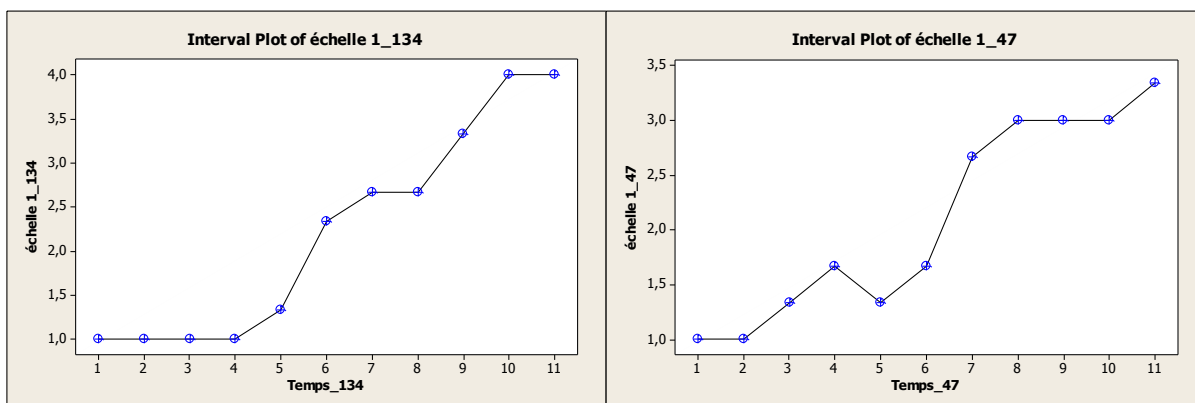


Figure 30: Evolution des moyennes pour l'échelle I des accessions 134 et 47 au cours des 11 évaluations

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Il est important de nuancer ces résultats car, pour chaque accession, seulement 3 répétitions ont été considérées. Ces 3 répétitions ont pu ne pas avoir le même comportement au cours du temps et fausser la moyenne obtenue par accession.

Les résultats obtenus pour l'échelle I ont donc été comparés à ceux obtenus pour l'échelle II et pour le poids.

2.1.2 OBSERVATIONS CONCERNANT L'ÉCHELLE II

Pour effectuer l'analyse de la variance, les cotations de l'échelle II (A, B, C, D) ont été converties en chiffres (1, 2, 3, 4) car le programme Minitab ne traite pas des données « texte ».

Les conditions d'application du test ont été considérées comme respectées. Les 462 populations (154 accessions X 4 évaluations) sont considérées comme normales pour les mêmes raisons que celles expliquées dans l'analyse concernant l'échelle 1. L'égalité des variances est également respectée car la P-valeur est supérieure à 0,05 (ANNEXE 10).

L'analyse de la variance montre qu'il existe une interaction entre le facteur temps et le facteur accession (1) ($P < 0,05$). Cela signifie que les accessions ont des formes de courbes différentes au cours du temps, c'est-à-dire que chaque accession ne se comporte pas de la même manière au cours du temps (TABLEAU 18). Dans notre cas, nous ne décomposons pas l'interaction.

Tableau 18: Résultats de l'analyse de la variance pour l'échelle II

Analysis of Variance for échelle 2, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
accession	153	603,1046	603,6209	3,9452	18,87	0,000 (3)
temps	2	102,5525	104,3817	52,1908	249,58	0,000 (2)
accession*temps	306	133,6165	133,6165	0,4367	2,09	0,000 (1)
Error	903	188,8333	188,8333	0,2091		
Total	1364	1028,1070				

La P-valeur inférieure à 0,05 du facteur temps (2) met également en évidence un « effet temps » (TABLEAU 18). Si nous observons l'évolution de la moyenne générale de l'échelle II au cours du temps, nous voyons que les tiges de l'ensemble des plantes dépérissent (FIGURE 31).

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

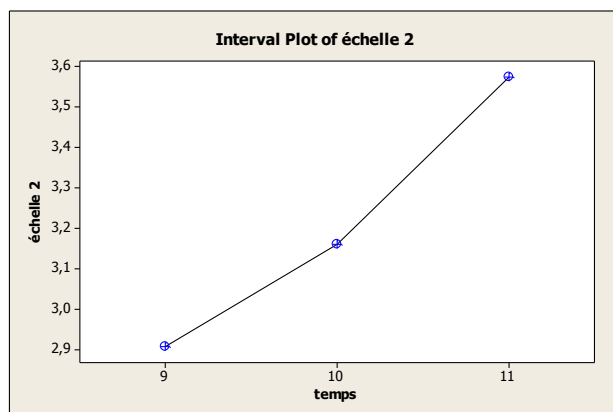


Figure 31: Evolution de la moyenne générale pour l'échelle II au cours du temps (3 évaluations)

La P-valeur de 0,000 du facteur accession (3) prouve « l'effet accession » (TABLEAU 18). Lorsque nous effectuons une structuration des moyennes pour les observations concernant l'échelle II, nous constatons que les 154 accessions possèdent des moyennes différentes. Ces moyennes ont été calculées à partir des observations recueillies pour les trois pots de chaque accession sur 3 évaluations (soit 9 observations par accession). Sur la figure 32, nous pouvons voir que la moyenne des observations concernant l'échelle II pour les 3 évaluations est différente pour chaque accession. Étant donné le peu d'évaluations testées, les différences entre moyennes sont moins nettes que celles observées pour l'échelle I. Nous pouvons cependant distinguer des moyennes plus basses que les autres qui pourraient correspondre à des accessions plus résistantes.

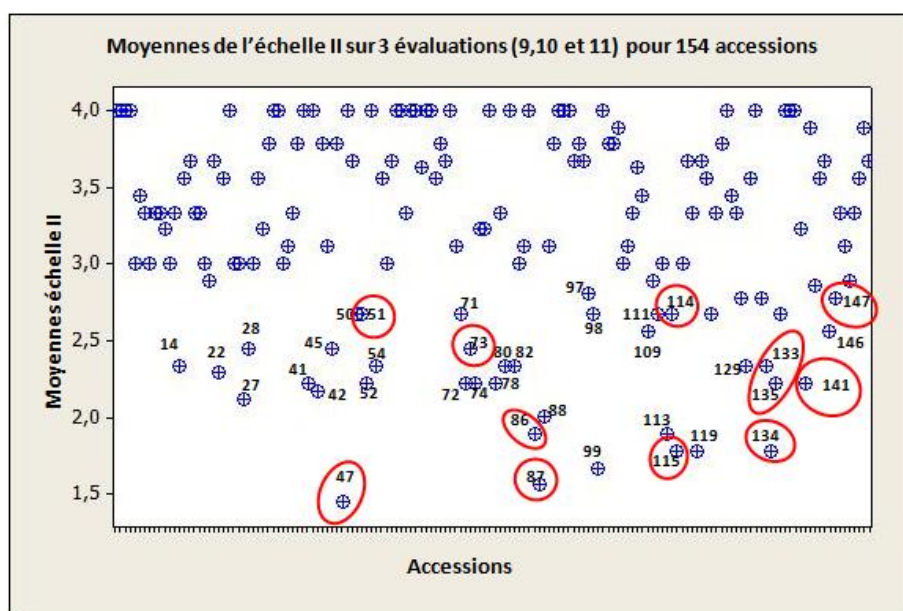


Figure 32: Moyennes de l'échelle II sur 3 évaluations pour 154 accessions

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Les accessions semblant plus résistantes à la sécheresse portent le numéro en serre : 14, 22, 27, 28, 41, 42, 45, 50, 51, 52, 54, 71, 72, 73, 74, 80, 82, 86, 87, 88, 98, 99, 109, 11, 113, 114, 129, 133, 134, 135, 141, 146, 147 (FIGURE 32).

Nous observons qu'une majorité des accessions repérées comme résistantes pour l'échelle I peuvent également être mises en évidence ici. Il s'agit des accessions : 47, 51, 73, 86, 87, 114, 115, 133, 134, 135, 141 et 147.

Il est important de remarquer que ces observations ont été recueillies sur seulement 3 évaluations. Les différences entre les moyennes aident à confirmer les résultats obtenus au point 2.1.1 mais ces écarts entre moyennes sont beaucoup moins représentatifs que ceux obtenues pour l'échelle I. L'observation de l'évolution de la moyenne de chaque accession (moyennes de 3 pots/répétitions) au cours du temps (pour chacune des 3 évaluations) permet uniquement de voir si les plantes ont été capables de récupérer après ré-arrosage. Cet arrosage des plantes stressées a été effectué alors que la majorité des accessions étaient arrivées à un point de non retour. Cela n'a donc donné que peu de résultats. Les plantes ont généralement conservé l'état qui les caractérisait à l'évaluation n°10 ou ont continué à dépérir (FIGURE 33). Ces constatations peuvent également être faites lors de l'observation des figures 26, 28, 29, 30 et 31.

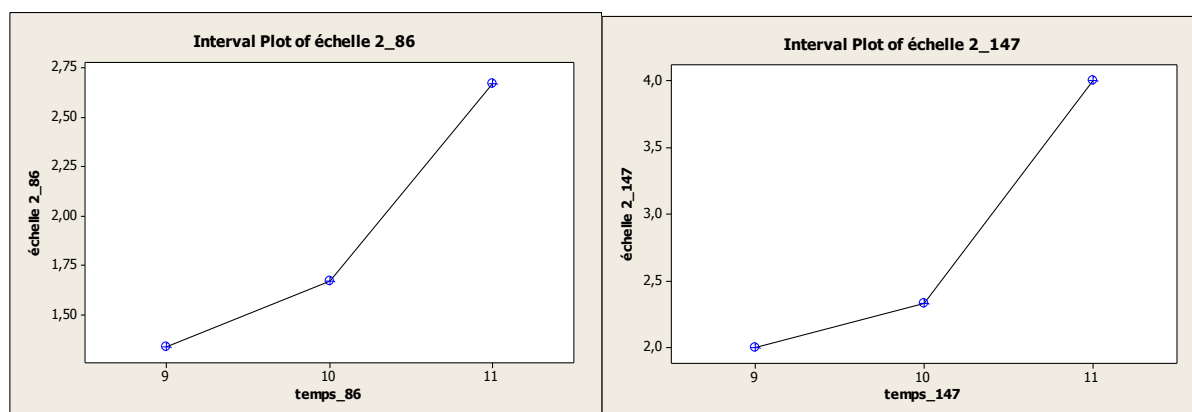


Figure 33 : Evolution des moyennes pour l'échelle II des accessions 86 et 147 au cours des 3 évaluations (9, 10, 11)

2.1.3 OBSERVATIONS CONCERNANT LE POIDS

Les conditions d'application de l'analyse ont été considérées comme respectées. Les 1 078 populations (154 accessions X 7 évaluations) sont supposées normales pour les mêmes raisons que celles expliquées dans l'analyse concernant l'échelle. L'égalité des variances est également respectée (ANNEXE 11).

L'analyse de la variance montre qu'il n'existe pas d'interaction entre le facteur temps et le facteur accession (1) ($P > 0,05$) (TABLEAU 19). Les accessions « perdent » du poids au cours du temps suivant une courbe similaire.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 19: Résultats de l'analyse de la variance pour le poids

Analysis of Variance for poids, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
acession	153	68004102	68141688	445371	6,90	0,000 (3)
temps	6	208981622	206285390	34380898	532,84	0,000 (2)
acession*temps	918	47181595	47181595	51396	0,80	1,000 (1)
Error	2120	136789912	136789912	64524		
Total	3197	460957231				

S = 254,015 R-Sq = 70,32% R-Sq(adj) = 55,25%

Il y a, bien sûr, un « effet temps » (2) (TABLEAU 19) car le poids de tous les pots privés d'eau a diminué au cours des 7 évaluations. Au fur et à mesure des observations, la moyenne des poids des accessions diminue car le substrat et la plante contiennent de moins en moins d'eau (FIGURE 34).

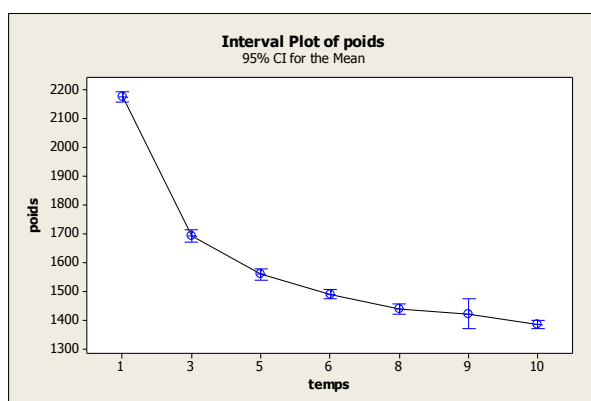


Figure 34: Evolution de la moyenne générale pour le poids au cours du temps (7 évaluations)

La P-valeur de 0,000 du facteur accession (3) prouve aussi « l'effet accession » (TABLEAU 19). Lorsque nous effectuons une structuration des moyennes pour les observations concernant le poids, nous constatons que certaines des 154 accessions possèdent des moyennes plus élevées. Ces moyennes pourraient correspondre à des accessions plus résistantes à la sécheresse capables d'économiser leur eau. Mais peu de ces accessions correspondent à celles mises en évidence aux points précédents. Nous pouvons seulement mettre en évidence les accessions numéro 47, 114, 115, 133, 134 et 141 qui ont une moyenne légèrement supérieure à la majorité des accessions (FIGURE 35). Ces résultats pourraient être attribués au fait que les deux dernières tables de la serre, sur lesquelles étaient disposées les accessions numéro 95 à 154, bénéficiaient de plus d'ombre que les autres tables et ont donc mieux préservé leur eau. En effet, les accessions possédant une moyenne plus élevée appartiennent en grande partie à ce groupe.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

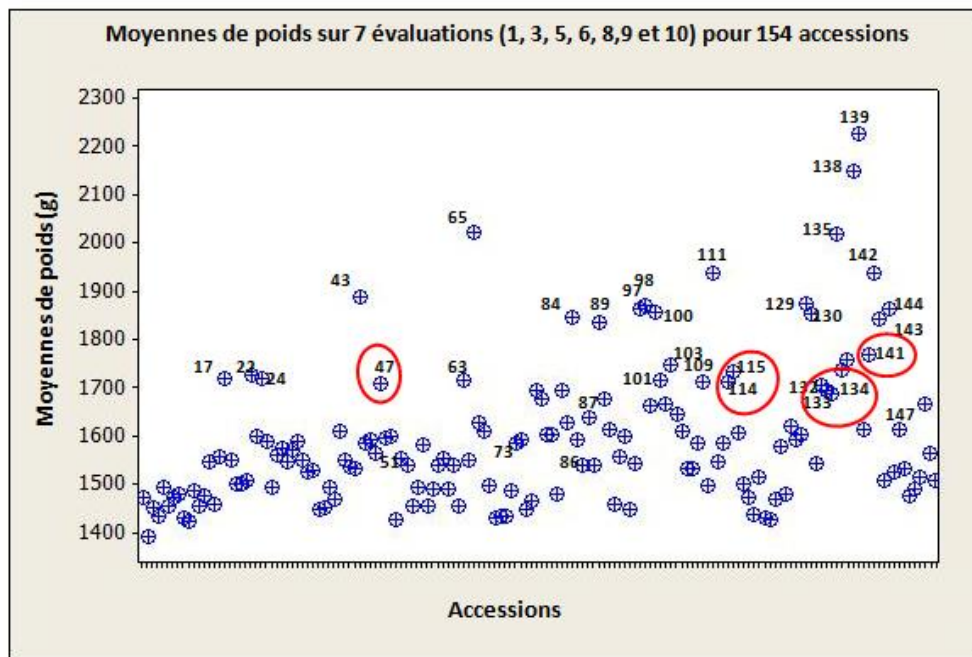


Figure 35: Moyennes de poids sur 7 évaluations pour 154 accessions

2.2 ANALYSE DES CORRESPONDANCES MULTIPLES ET ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES

Les analyses des correspondances multiples (ACM) réalisées pour les données de l'échelle I des premières évaluations montrent que l'ensemble des individus se comportent de la même manière au début de l'expérimentation (évaluations 1-2-3) et forme un nuage de points homogène. Par contre, on observe qu'au fur et à mesure que nous intégrons une évaluation en plus à l'ACM (c'est-à-dire que nous réalisons une nouvelle ACM pour les évaluations n°1 à n°2, n°1 à n°3, n°1 à n°4, ... n°1 à n°11), les points ont tendance à se séparer selon les axes. Il semble que l'axe X corresponde à un gradient de sensibilité et l'axe Y à un gradient de tolérance à la sécheresse. Mais nous devrions pousser nos recherches plus loin afin de connaître précisément la corrélation des axes avec les numéros d'observations.

De la même manière, une analyse en composantes principales a été réalisée pour les 11 évaluations portant sur l'échelle I. On constate que l'axe 1 est corrélé à l'ensemble des évaluations. L'axe 2 est fortement corrélé aux évaluations n°1 et n°2 tandis que l'axe trois est fortement corrélé aux évaluations n°10 et n°11. La corrélation signifie que si un point possède une valeur élevée sur un axe, les valeurs des évaluations auxquelles l'axe est corrélé sont également élevées. Un point possédant une valeur d'axe 2 élevée meurt donc plus rapidement et l'individu est plus sensible à la sécheresse.

Ces ACP et ACM ont été réalisées pour chaque individu, c'est-à-dire pour chaque pot de chaque accession. Les graphiques présentent donc 462 points. On remarque que tous les pots d'une même accession ne se comportent pas toujours de la même façon vis-à-vis de la sécheresse. Malice et al (2007) et Pissard et al (2007) ont déjà mis cet effet intra-variétal (ici intra-accession) en évidence chez d'autres tubercules andins, et notamment la oca pour certains caractères morphologiques et

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

moléculaires. Cet effet serait expliqué par les systèmes traditionnels de culture utilisés par les agriculteurs andins, étant donné que les pommes de terre sont cultivées et conservées de la même manière que la oca, il est peut être possible de trouver cette diversité intra-variétale pour le caractère tolérance à la sécheresse.

Il est difficile de comparer les résultats ACM obtenus par individu aux résultats Minitab obtenus par accession. Ce qui nous intéresse principalement dans ce travail, ce sont les résultats par accession. Mais il serait intéressant de pousser plus loin les investigations pour voir si les individus au sein d'une même accession ne se sont pas comportés de manière totalement opposée et de même, si des accessions appartenant à une même variété ont des comportements similaires ou non.

2.3 ÉVALUATION D'ACCESSIONS DE POMMES DE TERRE INDIGÈNES POUR LEUR TOLÉRANCE À LA SÉCHERESSE : CONCLUSIONS

Les accessions semblant présenter une tolérance à la sécheresse sont : Alqa Pali, BOL 1643 (n°47) ; Amajana, BOL 3208 (n°51) ; Wila Chojllu, BOL 3206 (n°73) ; Chaska Zapallo, BOL 2791 (n°86) ; Qetu Luki, BOL 4710 (n°87) ; Alqa Pali, BOL 1363 (n°114) ; Imilla Blanca, BOL 3659 (n°115) ; Cuchi Aca, BOL 5200 (n°133), Condor Papa, BOL 5052 (n°134), Yana Goyllu, BOL 4960 (n°135) ; Churi Zapallo, BOL 5184 (n°141), Luki Redonda, BOL 3005 (n°147).

Lorsque qu'on consulte les observations brutes obtenues on remarque bien que ces accessions ont gardé un état général correct plus longtemps. Elles se sont flétries et ont jauni plus tard que l'ensemble des accessions.

Nous constatons que plusieurs accessions appartiennent à la variété Alqa Pali ou à des variétés dont une partie du nom est composé de Luki ou Zapallo. Les variétés « Luk'i » et « Pali » sont souvent citées par les paysans comme des variétés résistantes à la sécheresse (ANNEXES 2 et 3).

Les accessions paraissant plus sensibles à la sécheresse sont : Gendarme, BOL 63 (n°1) ; Toralapa, BOL 2616 (n°22), Malkacho, BOL 3209 (n°34) ; Chejchi, BOL 1335 (n°41) ; Malkacho, BOL 2868 (n°62) ; Wayku, BOL 2330 (n°63) ; Chitico, BOL 2801 (n°64), Puka Chuchuli, BOL 29 (n°65) ; Piñu, BOL 2653 (n°79) ; Qaysalla, BOL 3395 (n°100) ; Candelero, BOL 5062 (n°138) ; Pinta Boca, BOL 4827 (n°139). Ces accessions ont montré des signes de faiblesse dès le début des observations et se sont rapidement fanées.

Plusieurs de ces accessions appartiennent également à une même variété : Malkacho.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3 MISE AU POINT ET TEST D'UNE NOUVELLE MÉTHODE D'EXTRACTION DE L'ADN ET COMPARAISON AVEC LA MÉTHODE CTAB

3.1 LABORATOIRES EN BOLIVIE

3.1.1 QUANTIFICATION DE L'ADN EXTRAIT PAR LA MÉTHODE CTAB

L'extraction CTAB et la quantification des 32 échantillons d'ADN de pomme de terre (ANNEXE 8) ont été réalisées en deux fois (20 échantillons et 12 échantillons). Ces quantifications ont donné des résultats positifs sauf pour l'accession « Imilla Blanca » (BOL 2750) (FIGURE 37). L'ADN de chacun des 31 autres échantillons était parfaitement visible (FIGURE 36 et 37) et a donc été correctement extrait. Ces échantillons ont été dilués dans un volume final de 100 μ l à l'aide d'eau distillée afin d'avoir une concentration de 4 ng/ μ l.

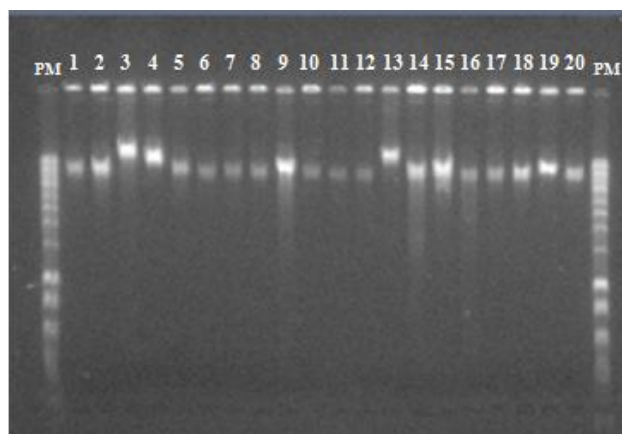


Figure 36: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium de 20 échantillons d'ADN extraits par CTAB à partir de feuilles d'accessions de pommes de terre. PM : marqueur de poids moléculaire ; quantification : (1) BOL 3644, 55ng/bande (2) BOL 2684, 60ng/bande (3) BOL 2973, 80 ng/bande (4) BOL 3005, 80 ng/bande (5) BOL 3731, 50ng/bande (6) BOL 2690, 30 ng/bande (7) BOL 3604, 30 ng/bande (8) BOL 11, 30 ng/bande (9) BOL 3210, 90 ng/bande (10) BOL 3680, 30ng/bande (11) BOL 3010, 30 ng/bande (12) BOL 3071, 30 ng/bande (13) BOL 2380, 75 ng/bande (14) BOL 3103, 75 ng/bande (15) BOL 1216, 80 ng/bande (16) BOL 2937, 35 ng/bande (17) BOL 2273, 35 ng/bande (18) BOL 1158, 50 ng/bande (19) BOL3593, 80 ng/bande (20) BOL 3737, 45 ng/bande.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

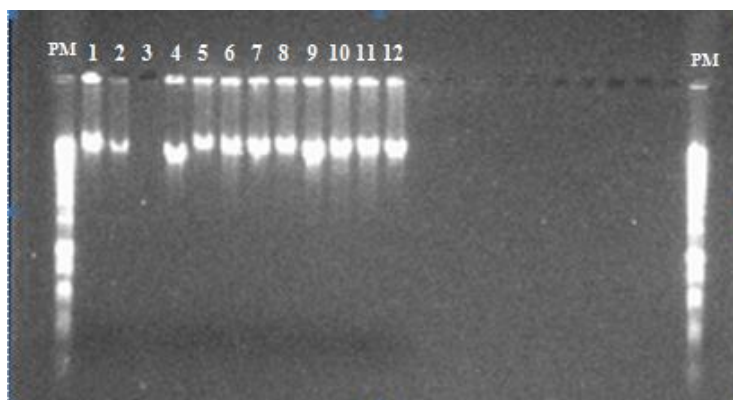


Figure 37: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium de 12 échantillons d'ADN extraits par CTAB à partir de feuilles d'accessions de pommes de terre. PM : marqueur de poids moléculaire ; quantification : (1) BOL 3771, 90 ng/bande (2) BOL 3558, 50 ng/bande (3) BOL 2750, / (4) BOL 248, 90 ng/bande (5) BOL 3164, 90 ng/bande (6) BOL 3427, 90 ng/bande (7) BOL 2612, 90 ng/bande (8) BOL 1056, 90 ng/bande (9) BOL 1040, 90 ng/bande (10) BOL 2731, 90 ng/bande (11) BOL 1700, 90 ng/bande (12) BOL 3716, 90 ng/bande

3.1.2 AMPLIFICATIONS

La visualisation de la PCR du 9 avril 2010, effectuée sur les 31 échantillons CTAB pour les marqueurs moléculaires RYSC3 et STM1104, montre qu'il y a eu amplification de STM1104 pour une majorité des échantillons (FIGURE 38). Nous pouvons en déduire que l'ADN des 31 échantillons CTAB ainsi que les réactifs utilisés sont de bonne qualité. Le contrôle négatif général (CNG) effectué avec de l'eau est négatif, il n'y a donc eu aucune contamination des réactifs.

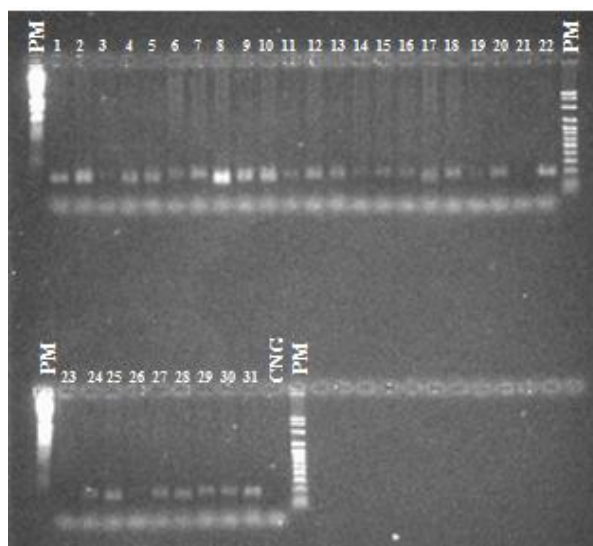


Figure 38: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium des produits d'amplification de la PCR du 9 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par CTAB. (PM) marqueur de poids moléculaire (1)BOL 3644, (2)BOL 2684, (3)BOL 2973, (4)BOL 3005, (5)BOL 3731, (6)BOL 2690, (7)BOL 3604, (8)BOL 11, (9)BOL 3210, (10)BOL 3680, (11)BOL 3010, (12)BOL 3071, (13)BOL 2380, (14)BOL 3103,

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

(15)BOL 1216, (16)BOL 2937, (17)BOL 2273, (18)BOL 1158, (19)BOL 3593, (20)BOL 3771, (21)BOL 3337, (22)BOL 3558, (23)BOL 248, (24)BOL 3164, (25)BOL 2612, (26)BOL 1056, (27)BOL 2731, (28)BOL 1700, (29)BOL 3716, (30)BOL 1040, (31)BOL 3427.

La PCR du 12 avril 2010, réalisée à partir de 31 échantillons extraits par la méthode FTA lavés à l'eau, l'éthanol et au tampon et 31 échantillons extraits pas la méthode FTA lavés à l'eau et au tampon, n'a donné aucun résultat. La visualisation des produits PCR ne montre aucune amplification, les deux marqueurs (STM1104 et RYSC3) ont formé des dimères (FIGURES 39 et 40). Par contre, le contrôle positif général (CPG), réalisé avec de l'ADN connu (BOL 3644) extrait par CTAB, a amplifié (pour STM1104) (FIGURE 39). Cela signifie que la PCR a été réalisée dans de bonnes conditions (réactifs,...) et qu'elle n'est pas responsable de l'absence de résultat.

Pour les deux types d'échantillons, FTA lavés à l'éthanol et FTA non lavés à l'éthanol, le contrôle positif (C+), contenant un disque FTA et de l'ADN connu (BOL 3644) extrait par CTAB, n'a pas amplifié. Pourtant, ce même ADN a été amplifié pour le contrôle positif général (CPG) effectué avec le même ADN mais sans disque. Le disque semble avoir inhibé la réaction et le lavage à l'éthanol ne paraît pas améliorer les résultats (FIGURES 39 et 40).

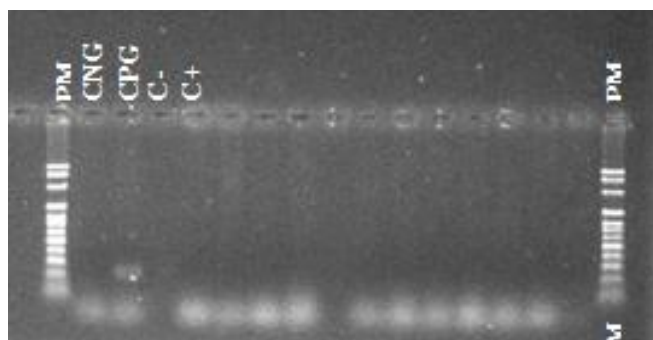


Figure 39: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium d'une partie des produits d'amplification de la PCR du 12 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par FTA, disques lavés à l'eau et au tampon TE. (PM) marqueur de poids moléculaire, (CNG) contrôle négatif général, (CPG) contrôle positif général, (C-) Contrôle négatif, (C+) contrôle positif.

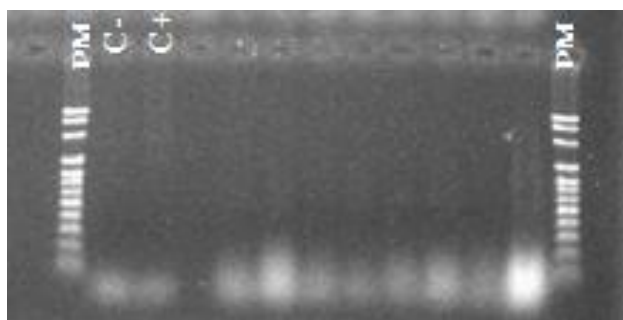


Figure 40: Révélation par électrophorèse sur gel d'agarose et incubation dans le bromure d'éthidium d'une partie des produits d'amplification de la PCR du 12 avril 2010 pour les marqueurs RYSC3 et STM1104 réalisée à partir de l'ADN d'accessions de pommes de terre extrait par FTA, disques lavés à

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.3 COMPARAISON DES MÉTHODES D'EXTRACTION CTAB ET FTA

3.3.1 COMPARAISON ÉCONOMIQUE

Le prix d'une extraction d'un échantillon ADN a été estimé pour chaque méthode (TABLEAUX 20 et 21). Cette estimation ne tient compte que des réactifs, tips et tubes mis en œuvre.

Le prix d'extraction de l'ADN par la méthode FTA est plus avantageux que celui de la méthode CTAB mais seulement de 25 cents. Il est certain que cela peut faire une différence importante sur un nombre élevé d'échantillons à traiter mais il est important de remarquer que le prix calculé pour la méthode CTAB comprend la quantification de l'ADN. Cette étape de quantification ne doit pas être réalisée dans le cas de la méthode FTA. Si on ne considère pas cette étape lors du calcul de prix CTAB, l'extraction CTAB en tant que telle est moins onéreuse que l'extraction FTA.

Tableau 20: Prix d'extraction d'un échantillon d'ADN par la méthode FTA

Extraction d'ADN par la méthode FTA (pour 20 échantillons)				
matériel	Quantités standards et prix	quantité/éch.	quantité/ 20 éch.	Prix/20 éch. (euros)
Carte Whatman FTA	145 euros/ 25 cartes de 4 emplacements (VWR international)	1/4 de carte	5 cartes	29
réactif de purification Whatman FTA	361 euros/500 ml (VWR international)	600 µl	2 ml	1,44
isopropanol	32,07 euros/2,5 l (VWR international)	400 µl	8 ml	0,1
TE ⁻² buffer (10 mM Tris-HCL, 0,1mM EDTA, pH 8)	1l (0,1euros+0,006euros) +/- 0, 11 euros/l	600 µl	12 ml	0,01
Trisma Base	1,210 g ; 412,13 euros/5kg Tris-HCl (Sigma)			
EDTA	0, 0372 ; 40,78 euros/ 250 g EDTA(Sigma)			
Tubes eppendorf	35,57 euros/1000 tubes (VWR international)	1	20	0,75
Tips bleu 200 µl-1000 µl	8,11 euros/ 1000 tips (Greiner Bio-one)	16	320	2,6
Parafilm	rouleau longueur 38 m et largeur 100 mm/ 31,50 euros (VWR international)	40 mmX 50 mm	400 mm X 100 mm	0,33
Total				30,55
				1,52 euros/éch.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 21: Prix d'extraction d'un échantillon d'ADN par la méthode CTAB

Extraction d'ADN par la méthode CTAB (pour 1 échantillon)				
Matériel	Quantités standards et prix (TVAC)	quantité/éch.	quantité/20 éch.	Prix/20 éch. (euros)
azote liquide				
CTAB (CETYLTRIMETHYLAMMONIUM BROMID)	25 euros/ 500 ml (VWR international)	700 µl	14 ml	0,7
Mercapto-éthanol	38,84 euros/ 100 ml (Sigma)	2 µl	40 ml	15,54
chloroforme	100,50 euros/2,5 l (VWR international)	1400 µl	28 ml	1,16
isopropanol	32,07 euros/2,5 l (VWR international)	400 µl	8 ml	0,1
Ethanol	25,95 euros/ 2,5 l (VWR international)	800 µl	16 ml	0,17
RNase	142,18 euros/ 50 mg (Sigma) (solution de 10mg/ml ; 28,4 euros/ml)	0,6 µl	12 µl	0,34
Tubes eppendorf	35,57 euros/1000 tubes (VWR international)	3	60	2,13
Tips bleus 200 µl-1000 µl	8,11 euros /1000 (Greiner Bio-one)	6	120	0,97
Tips jaunes 10 µl-200 µl	13,19 euros/ 1000 (Greiner Bio-one)	3	60	0,79
Trips transparents 0,5 µl- 10 µl	15 euros/ 1000 (Greiner Bio-one)	1	20	0,3
Agarose	266,47 euros/500 g (Fisher Bioblockscientifique)		1,92 g	1,02
TBE 10X (tris base, EDTA, Acide borique)	1l			
Trisma base	412,13 euros/5kg Tris-HCl (Sigma)		108 g	8,9
EDTA	40,78 euros/ 250 g EDTA(Sigma)		9,77 g	1,59
acide borique	30,86 euros/kg (Sigma)		55 g	1,7
Bleu de bromophénol	18,03 euros/ 5 g (Sigma aldrich) (0,2g/l)	1 µl	20 µl	0,01
Total				35,42
				1,77 euros/éch.

3.3.2 MATÉRIEL UTILISÉ

Le matériel mis en œuvre pour l'extraction FTA est moins important que celui utilisé pour l'extraction CTAB (TABLEAU 22). Il s'agit d'éléments plus faciles d'accès, moins onéreux et, pour la majorité, ne nécessitant pas d'électricité. La centrifugeuse, le bain-marie, la cuve d'électrophorèse sont des instruments coûteux.

Tableau 22: Matériel utilisé pour l'extraction d'ADN par la méthode CTAB et par la méthode FTA

Matériel utilisé (Hors réactifs, tubes eppendorf, tips, cartes, parafilm)	
Extraction FTA	Extraction CTAB
Gants	Gants
Bac frigorifique en frigolite (si mise sur papier en laboratoire)	Bac frigorifique en frigolite
Sacs plastique (si mise sur papier en laboratoire)	Sacs plastique
Pilon	Pilon
Pipette	Mortier
Balance	Pipette
Agitateur	Bain-marie
Silica gel	Centrifugeuse
	Agitateur
	Hotte
	Balance
	Cuve d'électrophorèse
	source d'UV et appareil de visualisation

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.3.3 AVANTAGES ET INCONVÉNIENTS DE CHAQUE MÉTHODE

La méthode FTA présente un avantage considérable quand les plantes à tester se trouvent dans des endroits éloignés du laboratoire et difficiles d'accès. En effet, lorsque l'on se trouve par exemple en pleines montagnes, il est plus facile de collecter et de garantir l'intégrité des échantillons prélevés. La mise sur carte et la conservation des cartes ne nécessitent pas de matériel encombrant ni l'utilisation de réfrigérant pour empêcher la dégradation du matériel végétal.

Un autre avantage non négligeable de la méthode FTA est le gain de temps qu'elle représente et la simplicité du matériel qu'elle exige.

Mais cette technique FTA demande quand même beaucoup de précision, les disques ne sont pas toujours faciles à manipuler. De plus, il faut laver de nouveaux disques pour chaque nouvelle PCR alors que l'ADN CTAB, une fois quantifié, n'a plus qu'à être sorti du congélateur où il peut être conservé très longtemps. La conservation des cartes FTA n'est pas garantie.

La quantité d'ADN extrait par CTAB est également connue avec précision et nous sommes certains de sa présence lors de la mise en œuvre de PCR.

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 23: Avantages et inconvénients des méthodes FTA et CTAB sur le terrain et en laboratoires

Méthode : FTA	Méthode CTAB
Sur le terrain	
Avantages	
Simple et facile à appliquer sur le terrain	Moins de risques de contamination
Possibilité de réaliser 100 échantillons / jour (MBOGORI et al, 2006)	
Conservation à température ambiante	
Facile à transporter sur de longues distances	
Plusieurs utilisations possibles de la carte	
Inconvénients	
Plus difficile à appliquer à des plantes à feuilles épaisses (MBOGORI et al, 2006)	Matériel nécessaire pour la conservation au frais des échantillons
Influencée par le climat et le moment de la journée	Risque de dégradation du matériel végétal lors de longs trajets
Cartes sensibles à l'humidité	Influencée par le climat et le moment de la journée
En laboratoires	
Avantages	
Equipements nécessaires peu coûteux	Conservation sur une longue période
Conservation à température ambiante	ADN visible à la fin de l'extraction
Prend peu de temps	Quantification de l'ADN (connaissance précise de la concentration)
Pas nécessaire d'effectuer une quantification de l'ADN	Nombreuse utilisation de l'ADN extrait (prêt pour d'autres PCR)
Temps: 2h à 3h (si mise sur papier en laboratoire)	
Inconvénients	
Manipulation délicate	Manipulation d'Azote liquide
Disques avec charge statique qui à tendance à sauter hors du tube	Matériel Frais ou congelé
Une seule utilisation du disque (nouveau disque et nouveau lavage à chaque PCR)	Equipements nécessaires relativement coûteux
Influence de l'âge de la feuille	Conservation de l'ADN extrait à -20 °C
Pas de certitude de la présence d'ADN	Quantification de l'ADN (étape en plus)
Pas de quantification de l'ADN	Temps: 1 journée (sans compter la récolte)
Cartes sensibles à l'humidité/ limite sa conservation	
Conservation des disques lavés durant maximum une semaine	

3.4 MISE AU POINT ET TEST D'UNE NOUVELLE MÉTHODE D'EXTRACTION DE L'ADN ET COMPARAISON AVEC LA MÉTHODE CTAB : CONCLUSIONS

Sur base des résultats obtenus lors des tests en laboratoires, la méthode d'extraction FTA ne semble pas vraiment adaptée à l'extraction d'ADN de pommes de terre. Le disque de papier Whatman semble inhiber la PCR. Mais certains tests devraient encore être réalisés pour pouvoir affirmer avec certitude que cette méthode ne fonctionne pas.

Qu'elle soit appliquée pour la pomme de terre ou d'autres végétaux, cette méthode pourrait être très avantageuse lorsque les plantes à tester se trouvent dans des endroits reculés et pourrait constituer un gain de temps certain. Les cartes peuvent être conservées à température ambiante et le transport du

CHAPITRE IV : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

matériel végétal sur de longues distances ne risque pas de dégrader le matériel végétal collecté. De plus, la mise sur papier et le lavage des disques prennent peu de temps.

Mais lorsqu'il s'agit de réaliser des tests sur du matériel végétal prélevé à proximité, la méthode CTAB est plus fiable. L'extraction prend plus de temps et est peut être plus contraignante mais une fois que l'ADN extrait est quantifié et si il est conservé dans de bonnes conditions, on peut en faire de nombreuses amplifications avec la certitude que les échantillons que nous testons sont de bonne qualité. De plus, la manipulation de l'ADN extrait par CTAB est plus facile que la manipulation des disques FTA qui ont tendance à sortir de leur contenant à cause de la charge statique qu'ils portent.

Le matériel engagé dans l'extraction CTAB est plus couteux mais la plupart des laboratoires réalisant des amplifications PCR possèdent déjà ce type de matériel. Cela ne constitue donc pas vraiment un obstacle.

V CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Les agriculteurs boliviens sont déjà coutumiers des périodes de sécheresse et de gelées intenses caractéristiques du climat de l'Altiplano et des régions avoisinantes. Pourtant, lors de nos rencontres, ils nous ont rapporté certaines modifications climatiques de plus en plus importantes. Ces changements interviennent principalement dans la fréquence et l'intensité des événements climatiques. Les épisodes de gel, de grêle et de sécheresse sont de plus en plus importants et violents. Le gel brûle les cultures de pommes de terre, les fortes pluies font pourrir les tubercules, la grêle cause des dégâts importants aux plantes et la sécheresse les affaiblit considérablement. Le période des pluies commence de plus en plus tard et obligent les cultivateurs à retarder leurs semis. Pour se protéger de ces événements climatiques et assurer un minimum de rendement, les agriculteurs sélectionnent des variétés plus adaptées à certains stress abiotiques et réalisent des mélanges de variétés.

Les méthodes ancestrales et traditionnelles ne suffisent plus à garantir la sécurité alimentaire des paysans et ils demandent l'aide des services agricoles concernés pour leur fournir le matériel nécessaire à la protection de leurs cultures (fertilisants, semences saines, matériel pour construire des digues de déviation des eaux, variétés résistantes). Ils souhaitent néanmoins conserver leurs systèmes de culture traditionnels. C'est pourquoi, un travail d'amélioration des variétés de pommes de terre en collaboration étroite avec les agriculteurs est une solution adéquate. Ils peuvent nous faire profiter de leur savoir ancestral et de leur connaissance des nombreuses variétés de pommes de terre indigènes qu'ils cultivent. Ils participeront ainsi à leur propre adaptation au changement climatique.

Selon Hijmans (2003), l'adaptation des variétés de pommes de terre à certains facteurs climatiques pourrait même avoir un effet positif sur la production si nous la combinons avec une modification de la période de semis ou des lieux de production.

Parmi les accessions de pommes de terre indigènes évaluées en serre, certaines semblent présenter une tolérance plus forte à la sécheresse. Ces accessions ont mieux supportés le manque d'eau lors de l'expérimentation. Elles se sont flétries moins rapidement que les autres et sont restées vertes et turgescentes plus longtemps. Il s'agit des accessions : Alqa Pali, BOL 1643 (n°47) ; Amajana, BOL 3208 (n°51) ; Wila Chojllu, BOL 3206 (n°73) ; Chaska Zapallo, BOL 2791 (n°86) ; Qetu Luki, BOL 4710 (n°87) ; Alqa Pali, BOL 1363 (n°114) ; Imilla Blanca, BOL 3659 (n°115) ; Cuchi Aca, BOL 5200 (n°5200), Condor Papa, BOL 5052 (n°134), Yana Goyllu, BOL 4960 (n°135) ; Churi Zapallo, BOL 5184 (n°141), Luki Redonda, BOL 3005 (n°147). Plusieurs de ces accessions appartiennent à la variété Alqa Pali ou à des variétés dont une partie du nom est composé de Luki ou Zapallo. Les dires des agriculteurs semblent corroborer les résultats obtenus. En effet, ceux-ci citent souvent des variétés portant le nom « Luk'i » ou « Pali » comme étant plus résistantes à la sécheresse.

D'autres accessions, plus sensibles au manque d'eau, ont pu également être mises en évidence. Il s'agit des accessions : Gendarme, BOL 63 (n°1) ; Toralapa, BOL 2616 (n°22), Malkacho, BOL 3209 (n°34) ; Chejchi, BOL 1335 (n°41) ; Malkacho, BOL 2868 (n°62) ; Wayku, BOL 2330 (n°63) ; Chitico, BOL 2801 (n°64), Puka Chuchuli, BOL 29 (n°65) ; Piñu, BOL 2653 (n°79) ; Qaysalla, BOL 3395 (n°100) ; Candelero, BOL 5062 (n°138) ; Pinta Boca, BOL 4827 (n°139). Ces accessions ont

CHAPITRE V : CONCLUSIONS GÉNÉRALES

montré dès signes de flétrissement dès le début des évaluations. Plusieurs de ces accessions appartiennent également à une même variété : Malkacho.

Ces résultats sont néanmoins à considérer avec précaution car les conditions d'expérimentation n'étaient pas idéales.

Les tests de la méthode FTA n'ont pas été très concluants et nous poussent à supposer que cette méthode d'extraction n'est pas vraiment adaptée à l'extraction d'ADN de végétaux et plus particulièrement de pomme de terre. Les PCR semblent être inhibées par la présence du disque FTA. Mais d'autres suppositions peuvent être avancées. En effet, nous ne sommes pas certains que les composants chimiques de ces cartes mettent réellement en évidence les acides nucléiques présents dans le matériel végétal et/ou les protègent des nucléases de l'oxydation et de la dégradation par les UV.

Cette méthode FTA présenterait un avantage certain lors de la collecte de matériel végétal dans des lieux éloignés et isolés mais la mise en pratique de cette technique a également permis de se rendre compte des difficultés de manipulation en laboratoires qu'elle peut présenter. La présence d'ADN sur les disques n'est pas confirmée ; sa conservation n'est pas longue ni assurée et certaines manipulations sont à répéter avant chaque PCR à l'inverse de la méthode d'extraction CTAB. Cette dernière semble plus rigoureuse et est pratiquée avec succès depuis un certain temps. Malgré son coût un peu plus élevé, il est sans doute préférable de continuer à l'utiliser.

VI PERSPECTIVES

Afin de mieux préciser ou identifier le groupe d'accessions ou variétés à tester pour leur tolérance à la sécheresse, nous pourrions à nouveau interroger les agriculteurs des régions semi-arides des Andes boliviennes afin d'obtenir un inventaire précis des variétés de pommes de terre indigènes utilisées par ceux-ci et qui leur semblent plus tolérantes à la sécheresse. À l'aide de cet inventaire et des résultats obtenus dans ce travail, une cinquantaine d'accessions correspondantes pourraient être sélectionnées dans la banque nationale de Bolivie. Le traitement d'un nombre moins élevé d'accessions donnerait sans doute des résultats plus précis. De plus, pour travailler dans des conditions idéales, l'expérimentation devrait être réalisée selon un dispositif aléatoire ou en blocs aléatoires s'il existe un gradient (de lumière, pente...).

Ces plantes pourraient être soumises à des tests plus pointus et notamment à des régimes d'eau différents. En plus des observations qualitatives, des mesures quantitatives plus précises pourraient être réalisées. Des éléments comme la fluorescence chlorophyllienne, le potentiel hydrique foliaire, la résistance stomatique, le déficit relatif en eau des feuilles, la teneur en eau du sol...pourraient être testés (TOURNEUX et al, 2002 ; VACHER et al, 1997). Malheureusement, ces mesures peuvent se révéler plus onéreuses que des observations de type qualitatif.

En ce qui concerne les bioindicateurs mis en évidence par les agriculteurs, il serait intéressant d'obtenir des réponses plus précises et de pouvoir lier cela à des recherches bibliographiques concernant les plantes ou animaux cités et d'autres pratiques similaires connues ou pratiquées dans d'autres régions.

Afin de pouvoir affirmer avec certitude que la méthode d'extraction FTA d'ADN ne fonctionne pas, les investigations devraient être encore poussées plus loin. Nous pourrions tenter d'optimiser les conditions d'amplification. La sélection des amorces, la concentration en ADN, la concentration des composants du milieu réactionnel et la température d'hybridation des amorces utilisées sont des éléments qui pourraient être testés.

Une autre méthode d'extraction d'ADN pourrait constituer l'intermédiaire entre la méthode CTAB et FTA. Il s'agit d'un dispositif de frottis végétal permettant de prélever des échantillons d'ADN sur des végétaux, de les stocker et de les transporter sans contamination. Ce kit est développé par DNAlis srl, une spin-off de Gembloux Agro Bio Tec. L'échantillon prélevé se trouve sur une membrane de prélèvement conservée dans un boîtier protecteur. Cette membrane est peu manipulée, ce qui limite les contaminations, au contraire des cartes FTA. Cela constituerait peut-être un avantage. De plus, avant les analyses ADN, les acides nucléiques présents sur cette membrane sont extraits dans un tampon spécifique. La membrane n'entre pas en compte lors de la PCR comme les disques FTA. (SIRRIS, 2010).

La société Sigma-Aldrich a également développé un système similaire aux cartes FTA nommé Extract-N-Amp™ Plant Kits mais le disque obtenu après découpe est incubé dans une solution d'extraction pendant 10 minutes et à une température de 85°C. C'est cette solution qui est ensuite utilisée pour les analyses PCR et non le disque (WANG et al, 2005).

CHAPITRE VI : PERSPECTIVES

Ces deux techniques présentent les mêmes avantages de terrain que la méthode FTA et pourraient être moins onéreuses que la méthode CTAB.

Ces techniques d'extraction suivies d'amplifications pourraient être utilisées pour mettre en évidence des marqueurs moléculaires associés aux stress abiotiques chez la pomme de terre. Un des buts principaux de la cartographie génétique est de fournir un cadre pour la sélection assistée par marqueur. Cela permettrait de gagner du temps et diminuer le coût de l'amélioration de nouvelles variétés et la recherche de variétés tolérantes à la sécheresse, au gel ou encore à la salinité et l'exposition aux UV (MILBOURNE et al, 2007).

VII RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AMAT Y LEÓN C. et al, 2008. *El Cambio Climático no tiene fronteras, impacto del cambio climático en la comunidad andina*. Lima: Secretaria General de la Comunidad Andina, 37p.

ARMSTRONG K., MARIC V. & SYMINGTON A., 2007. *Bolivie*. 3^{ème} éd. Paris : Lonely Planet, 421p.

BRUSH S.B, CARNEY H.J. & HUAMAN Z., 1981. Dynamics of Andean potato agriculture. *Econ. Bot.*, **35**, 70-88.

CADIMA X., ALMANZA J., GARCIA W., TERRAZAS F., GONZÁLES R. & GANDARILLAS A., 2003. Etnobotánica de tubérculos andinos en candelaria. In: GARCIA W & CADIMA X. (eds.), *Manejo sostenible de la agrobiodiversidad de tubérculos andinos: síntesis de investigaciones y experiencias en Bolivia*. Cochabamba, Bolivia, 46-46.

CAMPBELL N. A. & REECE J.B., 2004. *Biologie*. Bruxelles: De Boeck Université, 1364p.

CIRAD et al, 2002. *Memento de l'agronome*. Paris: CIRAD-GRET, Ministère des Affaires étrangères, 1691p.

CRESPO VALDIVIA F. et BELLOT KALTEIS S., 2004. *Servicios de Apoyo y Estructura, Estrategia y Rivalidad de las Empresas del Subsector de la Papa en Bolivia*. Bolivie: INNOVA

DOYLE J.J. & DOYLE J.L., 1990. Isolation of DNA from small amounts of plant tissues. *BRL Focus*, **12**, 13-15.

DE VIENNE D, éd., 1998. *Les marqueurs moléculaires en génétique et biotechnologies végétales*. 2^{ème} édition. Paris: INRA.

FAO, 2008a. Année internationale de la pomme de terre, Pomme de terre : La plante. <http://www.potato2008.org/fr/pommedeterre/index.html>, (21/06/10).

FAO, 2008b. Année internationale de la pomme de terre, Pomme de terre : Origines. <http://www.potato2008.org/fr/pommedeterre/origines.html>, (21/06/10).

FAO, 2008c. Année internationale de la pomme de terre, Pomme de terre : Propagation. <http://www.potato2008.org/fr/pommedeterre/propagation.html>, (21/06/10).

FAO, 2008d. Année internationale de la pomme de terre, l'Année : Pourquoi la pomme de terre?. <http://www.potato2008.org/fr/iyp/index.html>, (21/06/10).

FAO, 2008e. Année internationale de la pomme de terre, Profil par pays : Amérique latine. http://www.potato2008.org/fr/monde/amerique_latine.html, (21/06/10).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FAO, Etat plurinational de Bolivie. <http://www.fao.org/countryprofiles/index.asp?lang=fr&iso3=BOL>, (13/06/10).
- GHISLAIN M., NÚÑEZ J., DEL ROSARIO HERRERA M., PIGNATARO J., GUZMAN F., BONIERBALE M. & SPOONER D.M., 2008. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Molecular Breeding*, **23**, 377-388.
- HAWKES J.G., 1990. *The potato. Evolution, biodiversity and genetic resources*. Londres: Belhaven Press, 259p.
- HERNÁNDEZ BERMEJO J. E. ET LEÓN J., eds, 1992. *Neglected crops: 1492 from a different perspective*. Rome: Food and agriculture organization of the United Nations, 343p.
- HIJMANS R. J., 2003. The Effects of Climate Change on Global Potato Production. *American Journal of Potato Research.*, **80**, 271-280.
- HOPKINS, 2003. *Physiologie Végétale*. Bruxelles: De Boeck Université, 514p.
- IFAD, Rural Poverty Portal: statistics. <http://www.ruralpovertyportal.org/web/guest/country/statistics/tags/bolivia>, (13/06/10).
- INGAVI, 2006. *Nuestros bioindicadores naturales. Conozcámoslos y aprendamos de ellos*. La Paz: Programa de Suka kollus PROSUKO et Fundación AGRECOL Andes.
- IRIARTE V., CONDORI B., PARAPO D., ACUÑA D. et al, 2009. *Catálogo Etnobotánico de Papas Nativas del Altiplano Norte de La Paz-Bolivia*. Cochabamba: Fundación PROINPA, RC et INIAF, 142p.
- KASAI K., MORIKAWA Y., SORRI V. A., VALKONEN J. P. T., GEBHARDT C. & WATANABE K. N., 2000. Development of SCAR markers to the PVY resistance gene RY_{adg} based on a common feature of plant disease resistance genes. *Genome*, **43**, 1-8.
- LICHT VILLARROEL VOGT C., 2006. *Étude de la diversité génétique de la papalisa (Ullucus tuberosus caldas) conservée ex situ à l'aide des marqueurs moléculaires du type ISSR*. Mémoire de fin d'études, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique), 73p.
- MALICE M., 2003. *Etude de la diversité génétique des tubercules andins conservés in situ dans le microcentre de diversité de Candelaria, Cochabamba, Bolivie*. Mémoire de fin d'études, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique), 71p.
- MALICE M., MARTIN N., PISSARD A., ROJAS-BELTRAN J.A., GANDARILLAS A., BERTIN P. & BAUDOIN J.-P., 2007. A preliminary study of the genetic diversity of Bolivian oca (*Oxalis tuberosa* Mol.) varieties maintained *in situ* and *ex situ* through the utilization of ISSR molecular markers. *Genet. Resour. Crop. Evol.*, **54**, 685-690.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

MALICE M., 2009. *Genetic diversity and structure of three Andean tubers: oxalis tuberosa Molina, Ullucus tuberosus Caldas and Tropaeolum tuberosum Ruiz et PAV*. Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique, Communauté française de Belgique, Académie Universitaire Wallonie-Europe, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique), 185 p.

MBOGORI MN. KIMANI M., KURIA A., LAGAT M. & DANSON JW, 2006. Optimization of FTA technology for large scale plant DNA isolation for use in marker assisted selection. *African Journal of Biotechnology*, **5** (9) , 693-696.

MILBOURNE D., PANDE B. & BRYAN G. J., 2007. Potato. In: KOLE C., ed. *Genome mapping and molecular breeding in plants: Pulses, Sugar and Tuber crops (Vol 3)*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 205-236.

OCHOA C. M., 2001. *Las papas de Sudamerica : Bolivia*. 1ière éd. La Paz: Plural editores/CID, 535p.

OTTOMAN R.J., HANE D.C., BROWN C.R., YILMA S., JAMES S.R., MOSLEY A.R., CROSSLIN J.M. & VALES M.I., 2009. Validation and Implementation of Marker-Assisted Selection (MAS) for PVY Resistance (RY_{adg} gene) in Tetraploid Potato Breeding Program. *American Journal of Potato Research*, **86**, 304-314.

PACHAURI K., REISINGER A. et al, GIEC, 2008. *Bilan 2007 des changements climatiques: Rapport de synthèse*. Genève : Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), 103p.

PISSARD A., ROJAS-BELTRAN J. A., FAUX A.-M., PAULET S., BERTIN P., 2007. Evidence of intra-varietal genetic variability in the vegetatively propagated crop oca (*Oxalis tuberosa Mol.*) in the Andean traditional farming system. *Plant Systematics and Evolution*, **270**, 59-74.

PORTER J., PARRY M. & CARTER T., 1991. The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. *Agricultural and forestry meteorology*, **57**, 221-240.

PROKOP S. ET ALBERT J. (FAO), 2008. Année internationale de la pomme de terre 2008, Pommes de terre, nutrition et diététique. Fiche technique de la FAO, <http://www.potato2008.org/fr/pommedeterre/fiches.html>, (21/06/10).

REID H., HUQ S., 2007. *Adaptation to climate Change, And IIED Briefing: How we are set to cope with the impacts*. Londres: International Institute for Environment and Development (IIED), <http://www.iied.org/pubs/pdfs/17006IIED.pdf>, (20/06/10).

ROLOT J.-L., 2001. Pomme de terre (*Solanum tuberosum L.*). In: RAEMAEEKERS R. H., ed. *Agriculture en Afrique tropicale*. Bruxelles : DGCI, Ministère des Affaires Etrangères, du Commerce Extérieur et de la Coopération Internationale, 1634 p

ROUSELLE P., ROBERT Y., CROSNIER J.C., éd, 1996. *La pomme de terre. Production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations*. Paris : INRA, 607p

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SISTEMA DE INFORMACION SOBRE EL USO DEL AGUA EN EL AGRICULTURA Y EL MEDIO RURAL DE LA FAO-AQUASTAT, 2000. Estado Plurinacional de Bolivia. <http://www.fao.org/nr/water/aquastat/countries/bolivia/indexesp.stm>, (13/06/10).

SOLTNER D., 2005. *Les grandes productions végétales*. 20^e éd. Bressuire : Collection Sciences et Techniques Agricoles, 472p.

SIRRIS, 2010. <http://www.sirris.be/defaultPage.aspx?id=4606&LangType=2060>, (08/07/10)

SMIT A. L., VAMERALI T., 1998. The influence of potato cyst nematodes (*Globodera pallida*) and drought on rooting dynamics of potato (*Solanum tuberosum* L.). *European Journal of Agronomy*, **9**, 137-146.

STÄUBLI B. et al, 2008. Pommes de terre et changement climatique. *Inforessources*, Focus No 1/08, 15 p, http://www.inforessources.ch/pdf/focus08_1_f.pdf, (20/06/10).

TAGU D., MOUSSARD C., édés., 2003. *Principes des techniques de biologie moléculaire*. Paris : INRA, 176 p.

TERRAZAS F., CADIMA X., GARCIA R., ZEBALLOS J. et al, 2008. *Catálogo Etnobotánico de Papas Nativas, Tradición y cultura de los ayllus del Norte Potosí y Oruro*. Cochabamba: Fundación PROINPA, RC et CAD, 189p.

TERRAZAS F. & VALDIVIA G., 1999. Una experiencia metodológica en la identificación y caracterización de microcentros de biodiversidad en la región de Cochabamba, Bolivia. *In: Raices y Tuberculos Andinos. Avances de Investigación*. Lima: 1. Éd. Centro Internacional de la papa (CIP) y Consorcio para el Desarrollo Sostenible de la Ecoregión Andina (CONDESAN), 77-90.

TIMBERT A., 2010. *Amérique du Sud: la vague de froid fait cruellement souffrir les populations du Cône sud*. Actu latino, <http://www.actulatio.com/2010/07/21/amerique-du-sud-la-vague-de-froid-fait-cruellement-souffrir-les-populations-du-cone-sud/>, (01/08/10).

TOURNEUX C., DEVAUX A., CAMACHO M. R., MAMANI P. & LEDENT J.-F., 2002. Effects of water shortage on six potato genotypes in highlands of Bolivia (II): water relations, physiological parameters. *Agronomie*, (2003) **23**, 181-190.

VACHER J.J., 1997. Responses of two Andean crops, quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and papa amarga (*Solanum juzepczukii* Buk.) to drought on the Bolivian Altiplano: Significance of local adaptation. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **68**, 99-108.

VALEMBOIS C., 2008. *Etude de la diversité morphologique et génétique des tubercules andins (*Oxalis tuberosa* Mol. et *Tropaeolum tuberosum* R. & P.) conservés in situ dans des communautés andines de la région de Cuzco au Pérou*. Mémoire de fin d'études, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique), 80p.

VAVILOV N. I., 1960. *Estudio sobre el origen de las papas cultivadas*. Buenos Aires: Ediciones ACME Agency S. R. Ltda.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

WANG D., SONG K., KREADER C., WEBER S., VAN DINTHER J. & VALDES-CAMIN R., 2005. A high-throughput system for the rapid extraction of plant genomic DNA for genome mapping and marker assisted breeding studies. *Jala*, **10**, 242-245.

WATSON R., ZINYOWERA M., MOSS R. & DOKKEN D., 1997. *The regional impacts of climate change: an assessment of vulnerability*. Summary for policymakers. Report of IPCC Working group II, 16p.

ZIMMERER K.S., 1991. The regional biogeography of native potato cultivars in highland Peru. *Journal of Biogeography*, **18**, 165-178.

VIII ANNEXES

Annexe 1: Questionnaire soumis aux agriculteurs des régions de Llalagua et Cariquina Grande

Cuestionario sobre cambio climático para agricultores

Nombre del Agricultor _____

Nombre del encuestador _____

Fecha _____

Departamento ----- Provincia ----- Municipio-----

1.- Que comunidades son mas afectadas por los cambios del clima

a.- _____ b.- _____ c.- _____

d.- _____ e.- _____ f.- _____

Nombre comunidad encuestada _____

2.-. Cuales son los climas que afectan a la papa

- a)
- b)
- c)
- d)

Como afecta el a) -----

En que casos ayuda a) -----

Como afecta el b) -----

En que casos ayuda b) -----

Como afecta el c) -----

En que casos ayuda c) -----

Como afecta el d) -----

En que casos ayuda d) -----

2.1 En primer lugar cual de los climas que mencionaste es el que a cambiado mas

Resp. -----y como-----

2.2 En segundo lugar cual de los climas que mencionaste es el que ha cambiado mas

Resp. -----y como-----

2.3 Ante estos cambios climáticos que trabajos o acciones estas realizando para el primer caso

Rep.-----

2.4 Ante estos cambios climáticos que trabajos o acciones estas realizando para el segundo caso

Rep.-----

2.5 En estos últimos años cual es el desastre que se ha presentado mas fuerte

Rep.-----

2.6 Como ha afectado-----

3.- Que variedades de papa son mas fuertes a la helada

Resp _____

4. Que variedades de papa son mas fuertes a la sequia

Resp _____

5. Que variedades de papa son mas fuertes al anegamiento o a la excesiva Lluvia

Resp _____

6. En que etapas es perjudicial la helada en el cultivo de papa:

7. En que etapas es perjudicial la sequia en el cultivo de papa:

8. En que etapas es perjudicial el anegamiento o la excesiva lluvia en el cultivo de papa:

9. Que sistema de manejo de suelos se realizan en la comunidad para sembrar la papa

a) (plana o baja) -----

b) (intermedia o ladera) -----

c) (Alta o puna) -----

d) (Otro) -----

10. Como ha venido cambiando la papa en las siembras en:

a)(Plana o baja) -----

b) (Intermedia o Ladera) -----

c) (alta o puna) -----

d) (otro) -----

11. Que estas realizando para que no afecte a las papas nativas:

a) helada -----

b) Granizada -----

c) Sequia -----

d) Excesiva lluvia -----

12. Como llegas a pronosticar el clima o que observas

a)(Animales)-----b) (Plantas) ----- c) (algas) -----d) (otro) -----

Que animales observas

- que reacción -----
- que reacción -----
- que reacción -----
- que reacción -----

Que plantas observas

- que reacción -----
- que reacción -----
- que reacción -----
- que reacción -----

Que algas observas

- que reacción -----
- que reacción -----
- que reacción -----

13. Que acciones o trabajos realizas para que no afecte los cultivos

En helada -----

En granizada -----

En sequia -----

En excesiva lluvia -----

14. Que apoyo necesitas de las instituciones

- a) en Helada
- b) en Granizada
- c) en Sequia
- d) en mucha lluvia

15.- Que apoyo necesitas de los Municipios

- a) en Helada
- b) en Granizada
- c) en Sequia
- d) en mucha lluvia

16. Que apoyo necesitas de las prefecturas o gobierno

- a) en Helada
- b) en Granizada
- c) en Sequia
- d) en mucha lluvia

17. Por favor indique en orden de importancia de 1 a 5, donde 1 es más importante:

- a. Derrumbes e inundaciones, erosión de suelos y pérdida de nutrientes del suelo como resultado de las lluvias. (----)
- b. Menos agua disponible para beber y otros usos domésticos, y para la agricultura de secano y riego. (----)
- c. Aumento en la frecuencia e intensidad de sequías e incendios (---)
- d. Reducción en la productividad agrícola debido a cambios en el tiempo y la cantidad de precipitación, y un incremento de plagas y enfermedades (----)
- e. Pérdida de variedades agrícolas y especies forestales, desaparición de algunos insectos benéficos (----)
- f. Aumento de conflicto sobre uso de la tierra y recursos hídricos (----)
- i. Otros (por favor indicar) (----)

Questions	<p>Nom: Demetrio Jarro, Département: Potosi Province: Charcas Municipalité: San Pedro de Buena vista Communauté: Machacamarca Date: 25/03/10 Enquêteur: Victor Iriarte y Delphine Jaunard</p>	<p>Nom: Milaria Querpe Mamani Département: Potosi Province: Chuyanta Municipalité: Pocouti Communauté : Quewaylluni Date: 25/03/10 Enquêteur: Victor Iriarte y Delphine Jaunard</p>	<p>Nom: Martha Flores Mamaui Département: Potosi Province: Charcas Municipalité: San Pedro de Buena Vista Communauté : Japo Date: 25/03/10 Enquêteur: Benedicto Colque Flores et Delphine Jaunard</p>	<p>Nom: Benedicto Colque Flores Département : Potosi Province: Charcas Municipalité: San pedro de Buena Vista Communauté : Chiro Kuchu Date: 25/03/10 Enquêteur: Delphine Jaunard</p>
<p>Q1 : Quelles sont les communautés les plus affectées par le changement climatique</p>	<p>Pocorari Patapata Torejo Machacamarca</p>	<p>Tutuphaya Kollphakusi Nuñuwayani Tomoyo</p>	<p>Japo Chiro Kuchu Chiro K'asa Hornuhuta</p>	<p>Chiro Kuchu Japo Hornuhuta Chiro Rasa Lancaya</p>
<p>Q2 : Quels sont les éléments climatiques qui affectent le plus la pomme de terre, comment et peuvent-ils parfois avoir un effet positif ?</p>	<p>1 : la grêle, les grêlons sont gros comme des œufs d'oiseau 2 : le gel qui brûle les feuilles de pommes de terre 3 : la sécheresse qui annule la production de pommes de terre 4 : les fortes pluies qui font pourrir les pommes de terre</p>	<p>1 : la grêle affecte tout 2 : le gel brûle les pommes de terre 3 : les fortes pluies</p>	<p>1 : la grêle affecte la pomme de terre au moment de la floraison 2 : le gel affecte la pomme de terre au moment de la floraison. Mais, il peut être bénéfique pour la transformation en Chuño et aide à faire du Moraya et de la Tunta. 3 : la sécheresse qui affecte la pomme de terre au moment de la floraison</p>	<p>1 : la grêle qui affecte la pomme de terre au moment de la floraison 2 : le gel qui affecte également la pomme de terre au moment de la floraison mais qui peut être utile pour la transformation en Chuño 3 : les pluies torrentielles</p>

			4 : la pluie qui affecte le développement de la plante mais lorsqu'elle est modérée permet une bonne production	qui érodent les sols et provoquent une diminution de leur fertilité 4 : les parasites qui entraînent une faible production
Q 2.1 : Parmi les éléments climatiques cités, quel est le premier qui a changé le plus et comment ?	L'apparition de la grêle qui casse les tiges et fait tomber les branches	La grêle qui affecte toutes les productions et même les animaux	Les pluies torrentielles qui érodent le sol et emportent les plantes	La grêle
Q2.2 : Parmi les éléments climatiques cités, quel est le second qui a changé le plus et comment ?	Le gel qui brûle fortement les pommes de terre	Le gel, il réduit beaucoup la production (« arrive au moment où la production se fait »)	La grêle qui crée beaucoup de dégâts au niveau des plantes ou les tue.	Le gel qui est beaucoup plus fort qu'il y a quelques années
Q2.3 : Avant le changement climatique, quelles sont les actions qui étaient réalisées pour lutter contre l'élément cité en 2.1 ?	Pour lutter contre la grêle ils créaient des « grondements » avec des pétards, faisaient exploser de la dynamite, allumaient des feux et enfumaient les cultures.	Pour lutter contre la grêle, ils effectuaient des tirs, faisaient exploser des pétards pour faire éclater les grêlons, enfumaient les terrains mais ils ne la contrôlaient pas	Pour lutter contre la pluie et l'érosion, les agriculteurs disposaient de la paille entre les plantes	Pour lutter contre la grêle, ils utilisaient des pétards et de la dynamite
Q2.4 : Avant le changement	Pas de réponses	Pour lutter contre le gel, ils plaçaient des bouteilles de	Pour lutter contre le gel, les agriculteurs faisaient exploser de la	Pour lutter contre la pluie, ils utilisaient leurs savoirs

climatique, quelles sont les actions qui étaient réalisées pour lutter contre l'élément cité en 2.2 ?		plastique remplies d'eau en bord de champs	dynamite	locaux et ancestraux
Q 2.5 : Durant ces dernières années quel est le désastre qui s'est produit le plus fortement ?	La grêle	Le grêle	La grêle et les pluies torrentielles	La grêle
Q 2.6 : Comment le désastre cité en 2.5 affecte-t-il les cultures ?	Idem Q 2.1	Elle porte un coup aux pommes de terre et celles-ci ne peuvent plus être consommées	Idem Q 2.1 et Q 2.2	Des grêlons de la taille d'œufs d'oiseau tombent au moment de la floraison, abiment les fleurs et la plante.
Q 3 : Quelles sont les variétés de pommes de terre les plus résistantes au gel ?	Sañi Luk'i Runa papa	Papa Placi, Sañi papa Manjana, Yana Runa Runa Papa, Papa Imilla Yana Imilla, Alqa Imilla Holanda, Waycha Papa	Aqawiris Luk'i Waychá Pali yana runa quyuquyu	Luk'i Aqawiri Des variétés de pommes de terre amères
Q 4 : Quelles sont les variétés de pommes de terre les plus résistantes à la	Runa papa Manjana Yana Imilla Pali	Idem Q 3	Yana runa Aqawiri Luk'i Pali Yana Runa Yuraq imilla quyhaua	Sutamari, Zañi yana runa quyuquyu

sécheresse			Yana quyahus Achacana condor phuru	
Q 5 : Quelles sont les variétés de pommes de terre les plus résistantes aux inondations ou aux excès d'eau ?	Runa papa Mamjana Yana Imilla Pali	Papa Placi Idem 3	Idem Q 3 et Q 4	Sutamari Waycha Zañi
Q6 : A quel stade le gel est-il préjudiciable à la culture de pommes de terre ?	Durant le stade de croissance et de floraison	Juste au moment où la pomme de terre commence à croître	La floraison	La floraison et la tubérisation
Q 7 : A quel stade la sécheresse est-elle préjudiciable à la culture de pommes de terre ?	La floraison	La floraison	La croissance	La tubérisation
Q 8 : A quel stade l'excès de pluies est-il préjudiciable à la culture de pommes de terre ?	En production, cela fait pourrir la pomme de terre	Avant la récolte, elle fait pourrir les tubercules	Durant le développement et à la levée	Durant le développement de la plante
Q 9 : Quel système	Les terres utilisées se trouvent	Dans les plaines sur des	Dans les plaines : ladera.	

<p>de travail du sol est réalisé dans la communauté pour semer les pommes de terre... ?</p>	<p>dans les pentes et les hauteurs (ladera y altura)</p>	<p>parcelles nommées « Mantas ».</p> <p>Dans les hauteurs intermédiaires, les pommes de terre sont plantées sur les pentes (ladera).</p> <p>En hauteur, dans les pampas ou sur des parcelles plus ou moins plates.</p>	<p>Sur les pentes : pampa.</p>	
<p>Q 10 : Comment les agriculteurs ont-ils changés les semis de pommes de terre ?</p>	<p>En hauteur, auparavant il y avait beaucoup moins de grêle et de gel et elles apparaissaient à des moments précis maintenant le gel et la grêle apparaissent à tout moment.</p>	<p>Mantas : les semis sont réduits.</p> <p>Ladera : les semis n'ont pas changés.</p> <p>Pampa : les semis ont été avancés.</p>	<p>Ils ont été retardés sur les pentes et dans des zones plus chaudes.</p> <p>Dans les zones plus froides les semis ont été avancés.</p>	<p>Les semis sont avancés.</p> <p>On mélange les variétés.</p>
<p>Q 11 : Qu'est ce qui est réalisé pour que les pommes de terre ne soient pas affectées par le gel, la grêle, la sécheresse et les pluies excessives.</p>		<p>Voir 2.3 et 2.4</p>	<p>Voir Q 2.3 et 2.4</p>	<p>Enquêtes sur le savoir local pour lutter contre le gel et la sécheresse</p> <p>Utilisation de pétards, dynamite et du feu pour lutter contre la grêle</p> <p>Création de digue de</p>

				déviations pour lutter contre les pluies intenses
Q 12 : Comment arrivez-vous à prédire le climat et qu'observez-vous ?	<p>Animaux : <i>le renard</i>.</p> <p>Plantes : <i>Muña</i> pour prévoir le moment de semis et avancer le moment de la floraison.</p> <p>Algue : <i>algo laqo</i> quand la rivière en est remplie, cela prédit une bonne année.</p>	<p>Animaux : <i>le Condor</i>.</p> <p>Plantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Muña</i> : quand elle commence à fleurir on peut débiter les semis. - <i>Le blé</i> qui s'avance avant les pluies. <p>Algues : <i>Laqo</i>, quand elles sont vertes il va pleuvoir</p> <p>Autres : <i>la lune</i>, on sème à la nouvelle lune.</p>	<p>Animaux : <i>le renard</i> par ses hurlements.</p> <p>Plantes : <i>guwa</i>, ils observent sa floraison.</p> <p>Les algues, ils observent leur couleur.</p>	<p>Animaux : <i>le renard</i> qui hurle pour annoncer le moment des semis de pommes de terre (septembre-octobre)</p> <p>plantes: <i>Muña</i> dont on observe la floraison.</p> <p>Autres : <i>les vents</i>, quand ils sont forts, cela annoncent beaucoup de pluies.</p>
Q13 : Quelles actions sont réalisées pour que les éléments climatiques (gel, grêle, sécheresse, forte pluies) n'affectent pas les cultures ?	Voir Q 2.3 et Q 2.4	Voir Q 2.3 et Q 2.4	Voir Q 2.3 et Q 2.4	<p>Pour le gel : plantation d'arbres et d'arbustes</p> <p>Pour la grêle : dynamite et pétards</p> <p>Pour la sécheresse : irrigation</p> <p>Pour les pluies : digues de déviation</p>

<p>Q 14 : De quel appui avez-vous besoin venant des institutions ?</p>		<p>Qu'elles fournissent des semences.</p>	<p>Qu'elles tiennent compte des qualifications et des connaissances ancestrales des agriculteurs.</p>	
<p>Q 15 : De quel appui avez-vous besoin venant de la municipalité ?</p>	<p>Les agriculteurs demandent toutes les aides que les institutions, la municipalité, les préfectures et le gouvernement peut leur apporter.</p>	<p>Idem Q 15</p>	<p>Qu'elles fournissent des pétards pour lutter contre la grêle, qu'elles poussent à l'irrigation familiale pour lutter contre la sécheresse, qu'elles fournissent des piloris et du matériel pour créer des digues de dérivation et enfin qu'elles fournissent des semences.</p>	<p>Cours concernant le contrôle du gel.</p>
<p>Q 16 : de quel appui avez-vous besoin venant des préfectures ou du gouvernement ?</p>		<p>Idem Q 15</p>		<p>Apports financiers, pétards et dynamite ainsi que matériel pour construire des digues.</p>
<p>Q 17 : Indiquer l'importance de 1 à 5 (1 est le plus important) parmi les éléments suivants.</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (1)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (1)</p> <p>c. Augmentation de la</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (1)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (1)</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (1)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (4)</p> <p>c. Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (1)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (1)</p>

	<p><i>fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (1)</i></p> <p>d. <i>Réduction de la productivité agricole due aux changements dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (1)</i></p> <p>e. <i>Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (1)</i></p> <p>f. <i>Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (1)</i></p> <p>g. <i>Autres.</i></p>	<p>c. <i>Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (1)</i></p> <p>d. <i>Réduction de la productivité agricole due aux changements dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (1)</i></p> <p>e. <i>Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (1)</i></p> <p>f. <i>Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (1)</i></p>	<p><i>incendies. (5)</i></p> <p>d. <i>Réduction de la productivité agricole due aux changements dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (4)</i></p> <p>e. <i>Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (2)</i></p> <p>f. <i>Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (2)</i></p> <p>g. <i>Autres</i></p>	<p>c. <i>Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (1)</i></p> <p>d. <i>Réduction de la productivité agricole due aux changements dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (1)</i></p> <p>e. <i>Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (3)</i></p> <p>f. <i>Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (1)</i></p>
--	---	--	---	--

		<i>g. Autres</i>		<i>g. Autres</i>
--	--	------------------	--	------------------

Questions	<p>Nom: Teofilo Torres Mamani Département: La Paz Province: Camacho Municipalité: Mocomoco Communauté: Cariquina Grande Date: 30/03/10 Enquêteur: Eliseo Tangara, Guadalupe Copa et Delphine Jaunard</p>	<p>Nom: Remigo Ali Mamani Département: La Paz Province: Camacho Municipalité: Mocomoco Communauté : Cariquina Grande Date: 30/03/10 Enquêteur: Juan Sipe M. et Delphine Jaunard</p>	<p>Nom: Juana Silvo Département: La Paz Province: Camacho Municipalité: Mocomoco Communauté : Cariquina Grande Date: 30/03/10 Enquêteur: Bruno Condori et Delphine Jaunard</p>	<p>Nom: Nieves Mamani Samo Département: La Paz Province: Camacho Municipalité: Mocomoco Communauté : Cariquina Grande Date: 30/03/10 Enquêteur: Juana Flores Ticona</p>
<p>Q1 : Quelles sont les communautés les plus affectées par le changement climatique</p>	<p>Jutilaya Pacaures Taypi Ayca Cariquina Les communautés d'altitude</p>	<p>Punawa Cariquina Sapia Jutilaya Taypi Ayca</p>		<p>Jutilaya Taypi Ayca Cayña Pampa Jauqoma Pacaire Cariquina anico Cariquina Grande</p>
<p>Q2 : Quels sont les éléments climatiques qui affectent le plus la pomme de terre, et comment peuvent-ils parfois avoir un</p>	<p>1 : la grêle qui forme des rivières et détruit les plantes 2 : le froid associé au gel qui congèle la pomme de terre, sale et assèche le sol et cause des dommages lors de la floraison. Le gel peut quand même aider à faire le Chuño en juillet et août.</p>	<p>1 : la pluie qui apporte beaucoup de parasites mais permet aux plantes de croître lorsqu'elle tombe en quantités correctes 2 : la chaleur qui provoque évaporation et maladies 3 : l'humidité qui provoque</p>	<p>1 : le gel qui brûle les feuilles mais peut être utile pour la préparation des pommes de terre déshydratées 2 : la grêle à cause de laquelle les plantes perdent de nombreuses feuilles et fleurs 3 : la forte insolation qui</p>	<p>1 : la pluie intense qui fait pourrir les pommes de terre (Moraya) mais qui est positive quand il pleut tôt à l'époque des semis 2 : le soleil intense qui amène des parasites mais qui aide le développement des racines et</p>

effet positif ?	3 : la chaleur, en relation avec la sécheresse, assèche le sol et crée des dommages principalement en février 4. l'excès de pluies qui crée de « petits lacs » et fait pourrir la plante. Quand les quantités d'eau sont correctes, par contre, cela est très bénéfique à la plante	également des maladies.	engendre une évaporation intense, la dessiccation et le flétrissement des feuilles et des pommes de terre.	améliore la production de tubercules 3 : la grêle qui détruit et maltraite la plante et qui la laisse au sol (peut aider lorsque la préparation du sol doit être effectuée). 4 : le gel brûle la plante ; il n'y a pas de production quand il survient en février. Il peut aider à faire le Chuño/Tunta en août.
Q 2.1 : Parmi les éléments climatiques cités, quel est le premier qui a changé le plus et comment ?	Les pluies : auparavant elles étaient bien réparties et pas trop torrentielles mais maintenant elles sont torrentielles et tombent sur un temps court avec beaucoup de vent.	L'humidité occasionnant des maladies.	L'intensité du soleil était moindre avant.	La pluie qui est de plus en plus forte.
Q2.2 : Parmi les éléments climatiques cités, quel est le second qui a changé le plus et comment ?	La grêle et les grêlons dont la taille a fortement augmenté.	Les fortes pluies qui endommagent les plantes.		Le soleil qui brûle comme le feu.
Q2.3 : Avant le changement climatique, quelles	Ils réalisaient des rituels et observaient les bio indicateurs.	Rien n'est fait		Rien du tout, on ne sait pas comment la contrôler. Avec des

sont les actions qui étaient réalisées pour lutter contre l'élément cité en 2.1 ?				digues ? des collines ?
Q2.4 : Avant le changement climatique, quelles sont les actions qui étaient réalisées pour lutter contre l'élément cité en 2.2 ?	Ils utilisaient des pétards et jetaient de l'alcool sur les grêlons	Difficile à contrôler.	Ils allument des feux autour des champs pour lutter contre le gel. Ils effectuent aussi un rite appelé « palato » qui consiste à préparer une assiette d'œufs brûlés et à l'étendre près des champs. Ils jouent de la flûte et du tambour.	Ils apportent de l'eau aux cultures.
Q 2.5 : Durant ces dernières années quel est le désastre qui s'est produit le plus fortement ?	Les fortes pluies.	Le gel.	Les pluies intenses.	La pluie.
Q 2.6 : Comment le désastre cité en 2.5 a-t-il affecté les cultures ?	Les pluies emportent les parcelles et les chemins.	Le gel brûle toute la couverture végétale.	Les pluies provoquent la pourriture des cultures (Moraya).	La pluie apporte des maladies.
Q 3 : Quelles sont les variétés de pommes de terre	Choque pito Luk'is Ajahuiris	Luk'i	Luk'i Ajahuiris	Wata cacho Caisallo Luki ajahuiris

les plus résistantes au gel ?				
Q 4 : Quelles sont les variétés de pommes de terre les plus résistantes à la sécheresse ?	Luk'is Kati Kusillo Runta papa	Quellupuya Surimana Saganipaya	Quellupuya Sakapalla Kelio pulla	
Q 5 : Quelles sont les variétés de pommes de terre les plus résistantes aux inondations ou aux excès d'eau ?	Luk'is Choque pito			
Q6 : A quel stade le gel est-il préjudiciable à la culture de pommes de terre ?	De décembre à février lorsque la pomme de terre est à la fin de la floraison.	À la floraison et lors de la formation des tubercules.	À la floraison.	Quand elles sont en floraison, au mois de février
Q 7 : A quel stade la sécheresse est-elle préjudiciable à la culture de pommes de terre ?	Idem qui Q 6	Quand la plante est en plein développement.	À la floraison.	Au début, quand les feuilles apparaissent et la sécheresse les fait sécher.
Q 8 : A quel stade l'excès de pluies est-il préjudiciable à la culture de	En février lors de la tubérisation et jusqu'à la récolte.		À la floraison.	Lors de la production des tubercules, ils pourrissent et des maladies apparaissent.

pommes de terre ?				
Q 9 : Quel système de travail du sol est réalisé dans la communauté pour semer les pommes de terre... ?	<p>Dans les plaines, le système est nommé Sayaña.</p> <p>Sur les pentes, le système est nommé Uyus.</p> <p>En altitude, le système est nommé Aynocas.</p>	<p>Dans les plaines, le système est nommé Sayaña.</p> <p>Sur les pentes, le système est nommé Uyus.</p> <p>En altitude, le système est nommé Aynocas.</p>		<p>Dans les plaines, le système est nommé Sayaña.</p> <p>Sur les pentes, le système est nommé Uyus.</p> <p>En altitude, le système est nommé Aynocas.</p>
Q 10 : Comment les agriculteurs ont-ils changés les semis de pommes de terre ?	<p>Dans les Sayañas, avant ils semaient en septembre, maintenant en octobre car les pluies sont plus tardives et la température est plus élevée.</p> <p>Idem que les Sayañas pour les Uyus.</p> <p>Dans les Aynocas, avant ils semaient en septembre mais maintenant ils sèment d'octobre à novembre à cause du changement de température. Dans ce système, la récolte se fait avant celle des Sayañas, pour éviter les attaques de parasites.</p>	<p>Dans les Sayañas, de nombreux parasites sont apparus.</p> <p>Dans les Uyus, apparition de maladies.</p>		<p>Dans les Sayañas pas de changements.</p>

Q 11 : Qu'est ce qui est réalisé pour que les pommes de terre ne soient pas affectées par le gel, la grêle, la sécheresse et la pluie ?	Voir Q 2.3 et Q 2.4	Des rites.		Pour le gel, ils font des feux autour de la parcelle.
Q 12 : Comment arrivez vous à prédire le climat et qu'observez-vous ?	Lorsqu'il y a beaucoup de nuages noirs et une forte chaleur en journée, cela prévoit des pluies intenses	Animaux : - le crapaud : ils observent son corps - le lézard : - le lacu pour prédire les pluies et la sécheresse. Plantes : - saucayu : quand elle fleurit bien cela prédit une bonne année - chiguanaya : lorsqu'elle fleurit en septembre cela signifie que l'année sera bonne - Muña : lorsqu'elle fleurit sur le haut, l'année sera bonne	Animaux : - la souris : quand elle apparaît, ils observent sa couleur. Lorsqu'elles sont brunes cela prévoit de mauvais augures par contre si elles sont blanches l'année sera bonne. - le lézard - le crapaud : lorsqu'il sort cela prédit une bonne année. - lorsqu'il y a des oiseaux (des Tayakayu= oiseaux pieds froids) sur le champ quand on prépare le sol, cela annonce une année de gel. - le renard qui hurle au	Animaux : - le renard : si on en rencontre en septembre qui hurle fort cela prédit une bonne année - le crapaud : lorsqu'il est brillant, cela prédit une bonne année. Plantes : - Sanqayu : lorsqu'elle n'est pas affectée par le gel, la production sera bonne. Autres : - Laqio : quand cela apparaît dans les rivières, ils attendent

		pour les zones d'altitude.	<p>moment de semer.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le lièvre et le viscacha - L'Aykamari : lorsque cet oiseau se pose cela annonce une bonne année <p>Plantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Muña : quand elle fleurit, l'année sera bonne pour la production de oca 	beaucoup de pluies.
Q13 : Quelles actions sont réalisées pour que les éléments climatiques (gel, grêle, sécheresse, pluies) n'affectent pas les cultures ?	Voir Q 2.3 et Q 2.4	Rites.		Rites, apport d'eau venant des rivières.
Q 14 : De quel appui avez-vous besoin venant des institutions ?	Les agriculteurs souhaiteraient un appui pour leurs rituels, qu'on leur fournisse des fertilisants pour aider les plantes endommagées à reprendre après des grêles, du matériel pour protéger les parcelles des pluies.	<p>Méthodologie pour récupérer les plantes brûlées</p> <p>Station météorologiques</p> <p>Préoccupations concernant la santé animale.</p>	Semences de bonne qualité et résistantes.	<p>Produits pour aider les plantes à reprendre (gel).</p> <p>Variétés résistantes, fumigateurs (gel).</p> <p>Irrigation (sécheresse).</p>
Q 15 : De quel appui avez-vous besoin venant de la				

municipalité ?		Ouvertures de marchés.		Vivres pour les familles.
Q 16 : De quel appui avez-vous besoin venant des préfectures ou du gouvernement ?		Mise en place de système d'irrigation.		
Q 17 : Indiquer l'importance de 1 à 5 (1 est le plus important)	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (2)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (3)</p> <p>c. Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (1)</p> <p>d. Réduction de la productivité agricole due aux changements</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (5)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (1)</p> <p>c. Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (1)</p> <p>d. Réduction de la productivité agricole due aux changements</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (5)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (5)</p> <p>c. Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (5)</p> <p>d. Réduction de la productivité agricole due aux changements</p>	<p>a. Effondrements et inondations, érosion des sols et perte des nutriments du sol suite aux pluies. (5)</p> <p>b. Moins d'eau disponible pour l'alimentation et autres usages domestiques ainsi que pour l'agriculture et l'irrigation. (5)</p> <p>c. Augmentation de la fréquence et de l'intensité des sécheresses et des incendies. (5)</p> <p>d. Réduction de la productivité agricole due aux changements</p>

	<p>dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (4)</p> <p>e. Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (5)</p> <p>f. Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques.</p> <p>g. Autres.</p>	<p>dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (1)</p> <p>e. Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (1)</p> <p>f. Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (2)</p> <p>g. Autres</p>	<p>dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (1)</p> <p>e. Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (1)</p> <p>f. Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (5)</p> <p>g. Autres</p>	<p>dans la période des pluies et leur quantité, ainsi qu'une augmentation de la présence de parasites et de maladies. (1)</p> <p>e. Perte de variétés agricoles et d'espèces forestières, disparition de certains insectes bénéfiques. (5)</p> <p>f. Augmentation des conflits pour l'utilisation de la terre et des ressources hydriques. (5)</p> <p>g. Autres</p>
--	--	---	---	---

Annexe 4 : Données climatiques de Précipitations de la station météorologique de Llaguaga (Source : Victor Iriarte)

PRECIPITACIONES MENSUALES EN (mm) - ESTACION METEOROLOGICA ING. AGRONOMICA UNS XX												
	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre	noviembre	diciembre
2002												
MAX						7,00	13,00	12,00	5,00	13,90	12,00	10,80
MIN						0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA						0,23	1,07	0,60	0,27	1,80	1,35	1,08
TOTAL						7,00	33,30	18,50	8,00	55,80	40,40	33,60
2003												
MAX	19,20	14,10	96,40	4,00	2,50	0,00	5,00	0,40	6,60	4,10	4,00	13,50
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA	3,10	3,57	6,19	0,27	0,10	0,00	0,27	0,01	0,42	0,48	0,34	3,10
TOTAL	96,10	100,00	189,50	8,00	3,00	0,00	8,30	0,40	12,60	14,80	10,10	96,20
2004												
MAX	27,00	31,00	22,00	12,50	0,00	0,00	8,80	4,40	8,30	7,80	3,80	26,80
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA	6,71	4,11	1,96	0,87	0,00	0,00	0,53	0,47	0,84	0,43	0,29	2,55
TOTAL	208,00	119,30	60,90	26,20	0,00	0,00	16,30	14,60	25,30	13,30	8,80	79,20
2005												
MAX	36,90	58,00	18,80	8,80	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70	28,40	11,50	26,40
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA	6,61	6,75	1,94	0,93	0,00	0,00	0,00	0,00	0,80	2,18	1,80	3,17
TOTAL	204,90	189,00	60,10	27,80	0,00	0,00	0,00	0,00	23,90	67,60	54,10	98,20
2006												
MAX	33,50	14,30	15,30	16,80	4,50	0,00	0,00	0,50	13,80	14,20	13,60	11,80
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA	8,10	2,53	2,80	1,21	0,25	0,00	0,00	0,02	0,79	1,05	1,63	1,41
TOTAL	251,10	70,90	86,80	36,40	7,80	0,00	0,00	0,50	23,80	32,00	49,00	43,60
2007												
MAX	25,60	38,60	26,00	10,80	7,00	0,50	0,00	4,20	6,40	6,20	17,50	42,20
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA	4,68	3,31	3,22	1,28	0,23	0,02	0,00	0,21	0,70	0,37	2,02	3,31
TOTAL	145,20	92,80	99,70	38,30	7,00	0,50	0,00	6,50	21,00	11,40	60,60	102,60
2008												
MAX	27,40	20,60	16,20	6,00	0,00	0,00	1,00	1,00	2,20	12,50	5,10	16,00
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MEDIA	7,41	2,49	2,38	0,30	0,00	0,00	0,03	0,03	0,07	0,98	0,64	4,00
TOTAL	229,60	72,20	73,65	9,00	0,00	0,00	1,00	1,00	2,20	30,50	19,20	124,10
2009												
MAX	20,20	26,50	24,00	8,50	1,20	0,00	0,50	0,00	0,00			
MIN	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
MEDIA	4,34	5,04	3,79	1,00	0,04	0,00	0,02	0,00	0,00			
TOTAL	134,50	141,10	117,50	30,00	1,20	0,00	0,50	0,00	0,00			

Annexe 5 : Données climatiques de Températures de la station météorologique Llallagua (Source : Victor Iriarte)

DATOS DE TEMPERATURA MINIMA EN GRADOS CENTIGRADOS - ESTACION METEOROLOGIA UNS XX												
	enero	febrero	marzo	abril	mayo	junio	julio	agosto	septiembre	octubre	noviembre	diciembre
2002												
MAX						5,00	4,00	7,00	6,00	7,00	8,00	9,00
MIN						-4,50	-3,50	-5,00	-0,50	3,50	3,00	2,50
MEDIA						-0,49	-0,45	-0,30	2,70	5,53	5,44	7,02
2003												
MAX	10,00	13,00	9,00	8,00	8,00	3,00	5,00	4,00	7,00	9,00	8,50	10,00
MIN	5,00	4,00	3,50	-2,00	-5,00	-6,00	-4,00	-3,50	-2,10	0,00	2,00	4,00
MEDIA	6,97	6,75	6,10	3,00	-0,32	-1,83	-0,67	-0,22	1,52	4,07	5,00	6,61
2004												
MAX	8,40	8,40	8,00	9,00	4,40	5,00	4,80	4,80	7,80	8,30	8,00	8,80
MIN	5,00	4,00	3,80	0,20	-4,60	-5,40	-4,00	-1,80	0,20	0,80	3,60	4,20
MEDIA	6,60	6,11	5,88	3,80	-0,27	-1,96	-0,17	1,26	3,44	4,61	5,95	6,61
2005												
MAX	9,20	9,00	8,70	7,00	5,80	1,40	2,00	2,30	5,20	8,60	8,00	8,60
MIN	5,20	4,40	2,40	0,00	-2,00	-3,80	-3,00	-3,00	0,00	1,40	2,00	4,00
MEDIA	7,19	6,92	5,89	3,60	0,82	-1,33	0,07	-0,19	2,27	4,58	5,59	6,92
2006												
MAX	13,55	13,70	9,50	8,20	4,50	3,50	2,00	4,50	6,60	9,00	9,60	10,00
MIN	8,65	9,95	4,00	0,50	-2,80	-4,60	-4,80	-3,00	-2,60	2,00	3,20	5,00
MEDIA	10,97	11,69	6,44	4,02	-0,01	-1,58	-1,66	0,35	2,19	5,77	7,14	7,83
2007												
MAX	9,50	9,80	8,20	8,40	7,00	4,20	3,00	4,90	8,80	8,00	8,50	8,50
MIN	4,60	4,00	3,00	0,00	-3,00	-2,50	-4,80	-1,00	1,80	2,20	2,50	2,00
MEDIA	7,57	6,64	5,83	4,33	1,61	0,93	-0,92	1,35	4,27	5,21	5,69	6,03
2008												
MAX	9,00	8,00	7,00	6,00	2,00	5,00	2,00	2,00	3,20	8,20	9,00	11,00
MIN	5,00	4,00	2,00	1,00	-4,00	-6,00	-6,00	-5,00	-4,50	0,00	2,50	4,00
MEDIA	7,13	5,98	4,29	2,40	-1,20	-1,65	-2,47	-1,45	0,23	3,27	4,99	5,74
2009												
MAX	7,60	8,00	8,20	7,00	2,00	3,00	3,50	2,00	3,20			
MIN	2,20	3,50	2,00	-1,00	-2,00	-7,00	-5,00	-5,00	-2,00			
MEDIA	5,70	5,65	4,45	2,45	-0,57	-3,23	-2,16	-2,72	0,81			

Annexe 6: Accessions de pommes de terre indigènes évaluées en serre pour leur tolérance à la sécheresse.

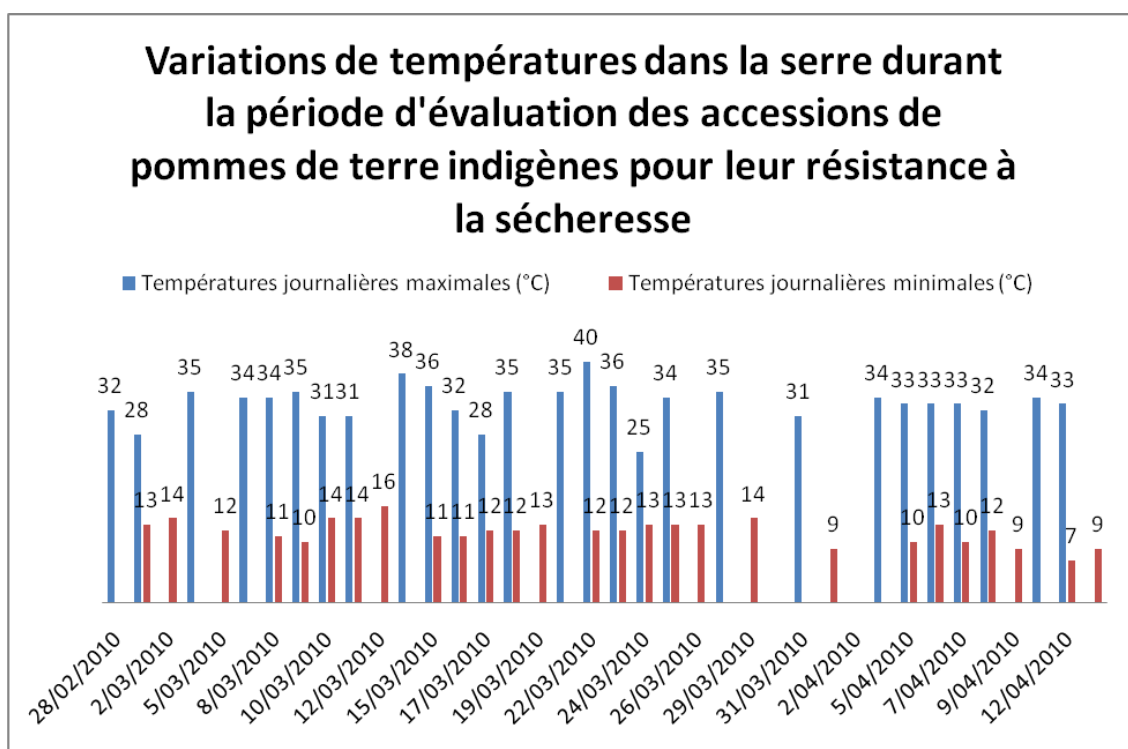
SPP	Nom de l'accession	Numéro d'identification de l'accession : BOL...	Numéro en serre
ADG	GENDARME	63	1
ADG	CHUCHI COLLU	1310	2
ADG	CASA BLANCA	1559	3
ADG	SANI IMILLA	3071	4
ADG	WILA YAKU	1295	5
ADG	ALQA IMILLA	2690	6
ADG	PACENA	1130	7
ADG	QOYU QOYU	3144	8
ADG	WILA IMILLA	2973	9
ADG	LARAM LUKI	3798	10
ADG	CHEJCHI PACENA	240	11
ADG	WAYCH'A	2684	12
ADG	WILA IMILLA	2380	13
ADG	WILA IMILLA	3680	14
ADG	GENDARME	35	15
ADG	GENDARME	2665	16
ADG	IMILLA NEGRA	11	17
ADG	ICARI	1294	18
ADG	IMILLA BLANCA	1216	19
ADG	IMILLA BLANCA	2750	20
ADG	SANI IMILLA	2681	21
ADG	TORALAPA	2616	22
ADG	DURAZNILLO	2438	23
ADG	ALQA SANI	2612	24
ADG	PUKA NAWI	3771	25
ADG	CHIYAR ALQA IMILLA	248	26
ADG	QOYU QOYU	2812	27
ADG	WILA PALA	1437	28
ADG	PALI	79	29
ADG	PUKA PALA	133	30
ADG	LAMBROME NEGRO	1472	31
ADG	LLOKALLITO	2963	32
ADG	CHEJCHI PALA	1420	33
ADG	MALKACHO	3209	34
ADG	SAQAMPAYA	1082	35
ADG	JANQO PALA	125	36
ADG	JANQO PALA	2648	37
ADG	POLONIA	160	38
ADG	PUKA NAWI	3072	39
ADG	IMILLA MORADA	107	40
ADG	CHEJCHI	1335	41
ADG	WAYCHA	1040	42
ADG	JANQO PALA	2894	43
ADG	PALA	1187	44
ADG	PALAMA	254	45

ADG	POLONIA	1427	46
ADG	ALQA PALI	1643	47
ADG	ALQA PALI	260	48
ADG	MILAGRO	3216	49
ADG	SULIMANA	3827	50
ADG	AMAJANA	3208	51
ADG	SALAMANI	1068	52
ADG	WILA WAKA LAJRA	2137	53
ADG	SAQAMPAYA	1488	54
STN	Puca Qoyllu	2694	55
STN	AMAJAYA	2940	56
STN	ACHACANA	2788	57
STN	ABAJEÑA	1290	58
STN	SAQ'AMPAYA	2663	59
STN	SEFERINA	3189	60
STN	SAQAMPAYA	2733	61
STN	MALKACHO	2868	62
STN	WAYKU	2330	63
STN	CHITICO	2801	64
STN	PUKA CHUCHULI	29	65
STN	CANASTILLA	3766	66
STN	QOYLLU	2682	67
STN	CHOJLLU	3856	68
ADG	CANASTILLA BLANCA	1143	69
STN	CANASTILLA	3676	70
STN	MACHO WAÑUCHI	3125	71
STN	ÑOJCHA	2670	72
STN	WILA CHOJLLU	3206	73
STN	YURAJ SULIMANA	3243	74
STN	KAMARA	3756	75
STN	CHIYAR AJAHUIRI	1434	76
STN	PITU WAYAKA ROJA	3204	77
STN	MILAGRO	3256	78
ADG	PIÑU	2653	79
juz	CHOJLLA LUKI	4708	80
STN	JANQO AJAHUIRI	3558	81
STN	CHIYAR PITU WAYAKA	2731	82
STN	NEGRO PIÑU	3858	83
STN	KATARI PAPA	2728	84
STN	CANDELERO	2620	85
GON	Chaska Zapallo	2791	86
JUZ	QETU LUKI	4710	87
PHU	SUKIMALLA	2889	88
AJH	AJAHUIRI MORADO	3427	89
AJH	MILAGRO	1700	90
AJH	LUNKU AJAHUIRI	3164	91
AJH	AJAHUIRI	2730	92
AJH	AJAHUIRI	3716	93
JUZ	YARI LUKI	3397	94

JUZ	WILA PHIÑU	3797	95
JUZ	PARINA CAYO	3799	96
JUZ	LUKI MORADO	3549	97
JUZ	CHIYAR WAKA ÑUÑU	2501	98
JUZ	LUKI PIROSA	3193	99
JUZ	QAYSALLA	3395	100
JUZ	-----	3077	101
CUR	JANQO CHOKE PITU	3593	102
CUR	JANQO CHOQEPITU	2273	103
CUR	JANQO CHOQE PITU	3604	104
CUR	LARAM LUKI	3418	105
ADG	GENDARME	273	106
AJH	JANQO AJAHUIRI	3199	107
STN	PEPINO	3163	108
ADG	ALQA IMILLA	3103	109
ADG	IMILLA ROSADA	2937	110
ADG	PACEÑA	2869	111
ADG	LUNCU IMILLA	4850	112
ADG	TORALAPA	3010	113
ADG	ALQA PALI	1363	114
ADG	IMILLA BLANCA	3659	115
ADG	CHIYAR ALQA IMILLA	3644	116
ADG	MAJARILLO	3210	117
ADG	WILA WAKA LAJRA	3615	118
ADG	-----	3682	119
ADG	LARAM PALI	1315	120
ADG	CONDOR IMILLA	2667	121
ADG	QOYLLU TAKA	5168	122
ADG	ICARI	3132	123
ADG	IMILLA NEGRA	1056	124
ADG	COLLAREJA LARGA	5191	125
ADG	SANI IMILLA	1481	126
ADG	LECHE PAPA	1336	127
ADG	YANA RUNA	5033	128
ADG	MONO MAQUI	3803	129
STN	PITU WAYO	5011	130
STN	SOLDADO	4859	131
STN	CONDOR UMA	4858	132
STN	CUCHI ACA	5200	133
STN	CONDOR PAPA	5052	134
--	YANA GOYLLU	4960	135
STN	CONDOR PAPA	4913	136
STN	PEPINO	4874	137
STN	CANDELERO	5062	138
STN	PINTA BOCA	4827	139
STN	SAITO KULI	4971	140
GON	CHURI ZAPALLO	5184	141
AJH	JANQO AJAHUIRI	3737	142
AJH	YARI BLANCO	3498	143

AJH	LARAM AJAHUIRI	4957	144
AJH	AJAHUIRI MORADO	3526	145
CUR	LUKI TURURU	3410	146
CUR	LUKI REDONDA	3005	147
CUR	JANQO CHOQE PITU	1158	148
CUR	JANQO CHOQUE PITU	3731	149
ADG	LARAM PALI	206	150
ADG	LARAM PALA	1382	151
ADG	LLOKALLITO	2622	152
STN	ALKAMARI	5207	153
PHU	PHUREJA DE SORATA		154

Annexe 7: Graphique représentant la variation des températures maximales et minimales dans la serre durant la période d'évaluation des accessions de pommes terre indigènes pour leur tolérance à la sécheresse.



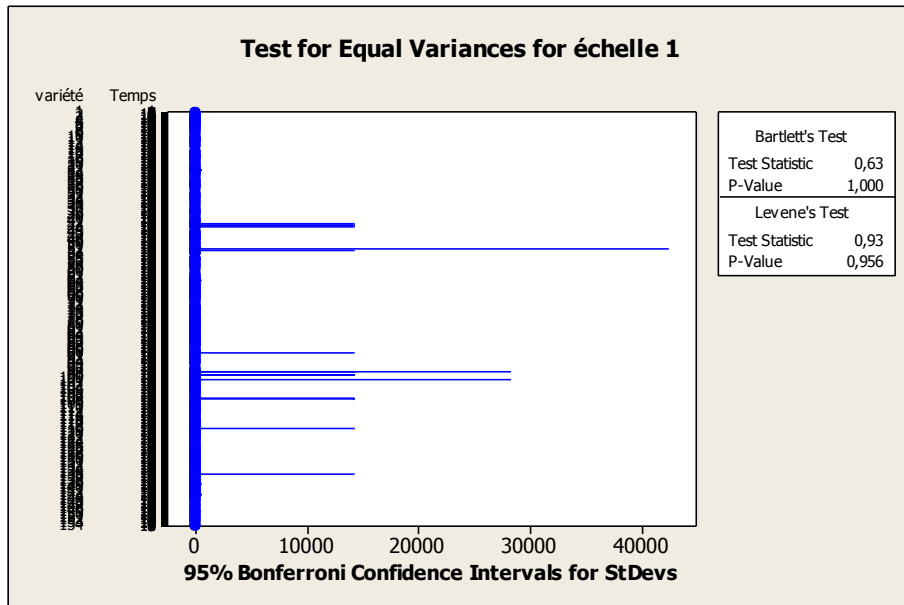
Annexe 8 : 32 accessions testées lors de la comparaison des méthodes d'extraction d'ADN (CTAB et FTA)

Nom de l'accession	Numéro d'identification de l'accession : Bol...	Numéro en serre	Quantification (ng/μl)
MILAGRO	1700	90	90
CHIYAR PITU WAYAKA	2731	82	90
JANQO AJAHUIRI	3558	81	50
WAYCHA	1040	42	90
JANQO CHOQE PITU	1158	148	50
LUNKU AJAHUIRI	3164	91	90
AJAHUIRI	3716	93	90
IMILLA NEGRA	11	17	30
CHIYAR ALQA IMILLA	248	26	90
IMILLA NEGRA	1056	124	90
IMILLA BLANCA	1216	19	80
ALQA SANI	2612	24	90
WAYCH'A	2684	12	60
ALQA IMILLA	2690	6	30
IMILLA ROSADA	2937	110	35
SANI IMILLA	3071	4	30
ALQA IMILLA	3103	109	75
MAJARILLO	3210	117	90
AJAHUIRI MORADO	3427	89	90
JANQO CHOQUE PITU	3731	149	50
JANQO CHOQEPITU	2273	103	35
WILA IMILLA	2380	13	75
IMILLA BLANCA	2750	20	90
WILA IMILLA	2973	9	80
LUKI REDONDA	3005	147	80
TORALAPA	3010	113	30
JANQO CHOQE PITU	3604	104	30
CHIYAR ALQA IMILLA	3644	116	55
WILA IMILLA	3680	14	30
JANQO AJAHUIRI	3737	142	45
PUKA ÑAWI	3771	25	90
JANQO CHOKE PITU	3593	102	80

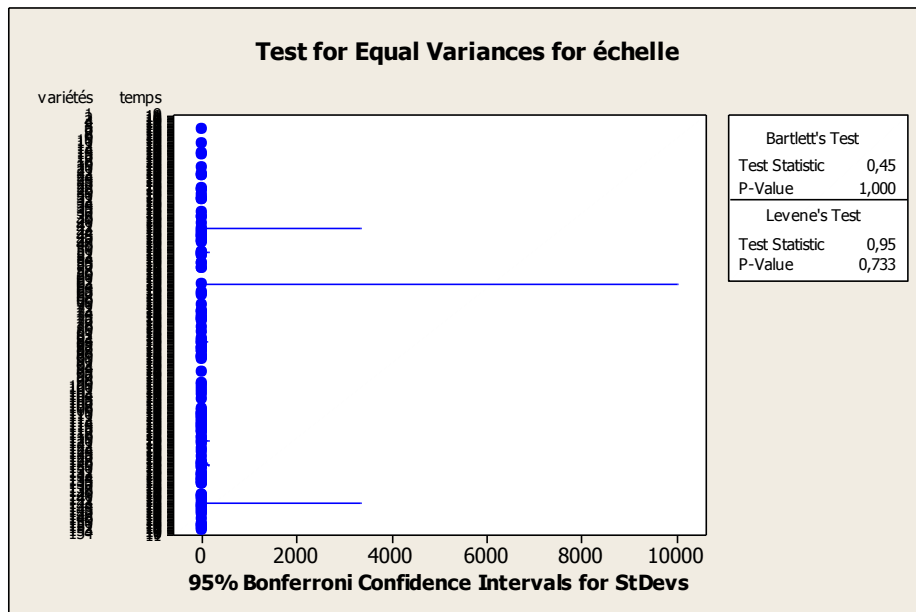
12 accessions sur lesquelles a été effectuée la PCR du 15 avril 2010

Accession dont l'ADN n'a pas été correctement extrait et qui n'a pas été utilisée lors des différentes PCR

Annexe 9 : Test d'égalité des variances pour les observations concernant l'échelle I



Annexe 10 : Test d'égalité des variances pour les observations concernant l'échelle II



Annexe 11 : Test d'égalité des variances pour les observations concernant le poids

