

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers**

**Département d'Agronomie**

**THESE**

**Présentée**



**En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences**  
**Spécialité : Sciences Agronomiques**  
**Option: Amélioration de la Production Végétale et Biodiversité**

**par**  
**Amina BELGUENDOZ**

---

---

**Optimisation des techniques de production et de  
conservation des microtubercules de la pomme de terre  
(*Solanum tuberosum* L.)**

---

---

**Soutenue le : 24/09/2022**

**Devant le jury:**

Président	M. BENDI DJELLOUL Baha Eddine	Prof.	Université de Tlemcen
Directeur de Thèse	M. BENMAHIOUL Benamar	Prof.	Université de Tlemcen
Examineur	M. DJABEUR Abderrazak	Prof.	Université USTO-M.B. d'Oran
Examineur	M. MILOUDI Ali	Prof.	Université de Mascara
Examineur	M. EL HAITOUM Ahmed	MCA	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2021/2022**

~ Leonardo da Vinci:

“Obstacles cannot crush me. Every obstacle yields to stern resolve. He who is fixed to a star does not change his mind.”

~ Chelsea Clinton:

“Determination gets you a long way.”

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma mère, A mon père*

*...pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui,  
votre amour me porte et me guide tous les jours.*

*A mes sœurs et frères*

*...qui ne me jamais laissent douter de leur amour,  
c'est une chance immense de vous avoir dans ma vie.*

*Amina ☺*

Remerciements illimités pour Allah, le plus grand et le tout-puissant, qui m'a donné la volonté, l'énergie et la patience de continuer jusqu'au bout pour réaliser ce modeste travail. L'achèvement de cette thèse n'a été possible qu'avec l'aide de près ou de loin de nombreuses personnes à qui je souhaite exprimer ma sincère gratitude.

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude au Professeur KAID-HARCHE Meriem pour sa rigueur scientifique, ses encouragements, son suivi de la progression du travail avec un grand intérêt et surtout de m'avoir permis de réaliser une grande partie de l'expérimentation au sein du laboratoire de Production et de Valorisation Végétale et Microbienne LP2VM de l'université USTO-M.B d'Oran. Ceci m'a aidé à compléter le travail et à le présenter sous cette forme. En votre absence, je tiens à vous exprimer toute ma reconnaissance tout en priant Allah le tout puissant, de vous accueillir dans son vaste paradis «*In chaa Allah*».

Je tiens vivement à remercier mon encadrant de thèse, Professeur BENMAHIOUL Benamar, de m'avoir guidée, encouragée et conseillée durant ce travail. Ses suggestions constructives ainsi que ses compétences m'ont beaucoup appuyée. Il a toujours été patient en dépit de toutes les difficultés. Merci pour la confiance qu'il m'a accordée. Merci pour la critique continue lors de la préparation et la finalisation du présent manuscrit pendant laquelle j'ai appris énormément de choses. Je vous suis profondément reconnaissante pour tout ce que vous m'a apporté.

Mes vifs remerciements s'adressent à M. BENDI DJELLOUL Sidi Mohamed Baha Eddine, Professeur à l'université de Tlemcen, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ma soutenance.

Un profond remerciement à M. EL HAITOUM Ahmed, Maître de conférences à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner notre travail de recherche.

Je remercie infiniment M. MILOUDI Ali, Professeur à l'université de Mascara, d'avoir accepté de faire partie du jury et d'apprécier notre travail.

Un chaleureux remerciement à M. DJABEUR Abderrazak, Professeur à l'université USTO-M.B d'Oran, de nous avoir honoré de sa présence et d'avoir accepté d'examiner notre modeste travail.

Je tiens à remercier l'équipe du laboratoire LP2VM pour l'aide qu'ils m'ont apportée pendant les manipes de cette thèse. Le travail de laboratoire de cette étude n'aurait pas été possible sans l'aide et le soutien des ingénieurs de laboratoire : M. GUERAR Abdelkader, Mme. BELGCHAIRI Chahinez, Mme. ACHOURI Houaria ainsi que M. MEZMAZ Riad. Merci pour votre agréable compagnie dans le laboratoire.

Enfin, mes remerciements les plus sincères à ma famille, la source de ma fierté, qui m'a soutenue et encouragée continuellement. Ils ont été toujours à mes côtés, mes parents sont très utiles pendant mon stress, ainsi que mes deux chères sœurs qui m'ont aidé et m'ont accompagnée dans toutes les parties de ce travail, en particulier dans les expériences jusqu'à des heures tardives au laboratoire. C'est avec émotion qu'à mon tour je leur dévoile le fruit de mes efforts. J'espère être à la hauteur de leur fierté.

## Optimisation des techniques de production et de conservation des microtubercules de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.).

### Résumé

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est une importante culture vivrière qui assure la sécurité alimentaire de nombreux pays. Pour préserver les génotypes et promouvoir la production de tubercules semences de pomme de terre exempts de maladies et en quantité suffisante, plusieurs méthodes de cultures *in vitro* sont pratiquement utilisées.

La production de microtubercules de pomme de terre est considérée comme une étape intermédiaire classique pour rendre possible l'utilisation en plein champ du matériel végétal d'origine *in vitro*. Les techniques utilisées pour la production de microtubercules sont diverses. Nous avons adopté un système reproductible pour deux cultivars de pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*). Les effets de l'agar-agar, du charbon actif, du sucre et des régulateurs de croissance ont été mis en évidence à travers l'étude de quelques caractères de l'appareil végétatif (nombre de feuilles et des entre-nœuds, longueur de pousses et de racines, biomasses fraîches de l'appareil végétatif aérien et racinaire) et quelques paramètres relatifs aux microtubercules formés (nombre, poids et diamètre de microtubercules).

Il ressort de cette étude que, la culture en milieu semi-solide a eu une influence significative sur la croissance de microtubercules de pomme de terre, notamment sur les deux paramètres, la longueur et le poids. Chez la variété *Spunta*, ce milieu a permis la production de microtubercules de qualité (1,4 cm de diamètre et 1,2 g de poids). En revanche, le milieu liquide a augmenté le nombre de microtubercules, mais leur taille et leur poids sont restés faibles.

Les milieux de culture additionnés de différentes concentrations en charbon actif (CA) ont affecté de manière significative la production de microtubercules chez les deux variétés étudiées. Un nombre optimal de microtubercules a été enregistré avec le lot témoin ( $4,47 \pm 0,51$ ) pour le cultivar *Désirée*. Toutefois, pour la longueur et le poids des microtubercules produits, les meilleurs rendements (1,04 cm et 1,06 g) ont été enregistrés avec la dose de  $2 \text{ g l}^{-1}$  pour le cultivar *Désirée* alors qu'une concentration plus élevée en CA ( $10 \text{ g l}^{-1}$ ) a stimulée la croissance des microtubercules de *Spunta* (1,16 cm et 0,94 g). D'un autre côté, les milieux MS semi-solides additionnés de thidiazuron (TDZ) à la dose de  $1 \text{ mg l}^{-1}$  ont été jugés plus favorables à la microtubérisation comparativement aux autres traitements hormonaux testés. Nos résultats obtenus ont montré également que la substitution du saccharose par le mannitol ou le sorbitol n'a pas amélioré les rendements. Au contraire, nous avons noté un effet négatif de ces sucres sur le diamètre et le poids des microtubercules produits.

Les stress abiotiques appliqués (salin et hydrique) ont induits des effets négatifs sur l'induction *in vitro* et la croissance de microtubercules de pomme de terre. En effet, la réduction des différents paramètres de croissance étudiés par rapport au témoin, est importante pour la longueur des pousses, le nombre de feuilles et la longueur racinaire.

En ce qui concerne la conservation de microtubercules, nos résultats ont révélé l'effet marqué du poids de microtubercules stockés à  $4^\circ\text{C}$  sur la germination. Parmi les trois classes de microtubercules testés, la classe à poids moyen (0,5-1 g) a montré le pourcentage de germination le plus élevé (65%). Toutefois, les essais portés sur la cryoconservation ont donné des résultats encourageants. Les microtubercules de la variété *Désirée* déshydratés pendant 90 min sur silica gel ont affiché le taux de germination le plus élevé après conservation à l'azote liquide à  $-196^\circ\text{C}$ .

**Mots clés:** *Solanum tuberosum* L., cultivar, production de semence, culture *in vitro*, microtubercules, agar-agar, charbon actif, régulateurs de croissance, stress abiotiques, déshydratation, cryoconservation.

## Optimization of production and conservation techniques for potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers.

### Abstract

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is an important food crop that ensures food security in many countries. To preserve genotypes and promote the production of disease-free seed potato tubers in sufficient quantity, several *in vitro* culture methods are practically used.

The production of potato microtubers is considered a classical intermediate step to make field use of the original *in vitro* plant material possible. The techniques used for microtuber production are diverse. We adopted a reproducible system for two potato cultivars (*Desiree* and *Spunta*). The effects of agar-agar, activated carbon, sugar and growth regulators were demonstrated through the study of some characters of the vegetative apparatus (number of leaves and internodes, length of shoots and roots, fresh biomass of the aerial and root vegetative apparatus) and some parameters related to the formed microtubers (number, weight and diameter of microtubers).

It appears from this study that the culture in semi-solid medium had a significant influence on the growth of potato microtubers, especially on the two parameters, length and weight. In the *Spunta* variety, this medium allowed the production of quality microtubers (1.4 cm in diameter and 1.2 g in weight). In contrast, the liquid medium increased the number of microtubers, but their size and weight remained low.

Culture media supplemented with different concentrations of activated charcoal (AC) significantly affected microtuber production in both varieties studied. An optimum number of microtubers was recorded with the control batch ( $4.47 \pm 0.51$ ) for the cultivar *Desiree*. However, for the length and weight of microtubers produced, the best yields (1.04 cm and 1.06 g) were recorded with the 2 g l<sup>-1</sup> dose for the cultivar *Desiree* while a higher concentration of AC (10 g l<sup>-1</sup>) stimulated the growth of *Spunta* microtubers (1.16 cm and 0.94 g). On the other hand, semi-solid MS media supplemented with thidiazuron (TDZ) at the dose of 1 mg l<sup>-1</sup> was found to be more favorable for microtuberization compared to other hormone treatments tested. Our results also showed that substitution of sucrose with mannitol or sorbitol did not improve yields. On the contrary, we noted a negative effect of these sugars on the diameter and weight of microtubers produced.

The applied abiotic stresses (salt and water) induced negative effects on the *in vitro* induction and growth of potato microtubers. Indeed, the reduction of the different growth parameters studied compared to the control is significant for shoot length, number of leaves and root length.

Regarding the storage of microtubers, our results revealed the marked effect of the weight of microtubers stored at 4°C on germination. Among the three classes of microtubers tested, the medium weight class (0.5-1 g) showed the highest germination percentage (65%). However, the cryopreservation tests showed encouraging results. Microtubers of *Desiree* variety dehydrated for 90 min on silica gel showed the highest germination rate after liquid nitrogen preservation at -196°C.

**Keywords:** *Solanum tuberosum* L., cultivar, seed production, *in vitro* culture, microtubers, agar-agar, activated charcoal, growth regulators, abiotic stresses, dehydration, cryopreservation.

تحسين تقنيات إنتاج وحفظ ميكرو درنات البطاطا (*Solanum tuberosum* L.).

## المخلص

البطاطا (*Solanum tuberosum* L.) محصول غذائي مهم يضمن الأمن الغذائي في العديد من البلدان. للحفاظ على الانواع الجينية وتعزيز إنتاج درنات بذور البطاطا الخالية من الأمراض بكميات كافية، يتم استخدام عدة طرق للزراعة في المختبر عملياً.

يعتبر إنتاج ميكرو درنات البطاطا خطوة وسيطة كلاسيكية في امكانية استخدام موارد نباتية ميدانية من أصل مختبري. التقنيات المستخدمة لإنتاج الميكرو درنات متنوعة. لقد اعتمدنا نظاماً منتجاً لاثنين من أصناف البطاطا (*Désirée* و *Spunta*). وقد أظهرت آثار agar-agar، الفحم، السكر و منظمات النمو من خلال دراسة بعض خصائص الجهاز النباتي (عدد الأوراق، ما بين العقد الساقية، طول البراعم والجذور و الكتلة الحيوية الرطبة للجهاز الاخضر الهوائي والجهاز الجذري) وبعض المعايير المتعلقة بالميكرو درنات المتشكلة (عدد، وزن وقطر الميكرو درنات).

يبدو من خلال هذه الدراسة، أن الزراعة في الوسط الشبه السائل كان لها تأثير كبير على نمو ميكرو درنات البطاطا، لا سيما على كل من معايير الطول والوزن. في صنف *Spunta*، سمح هذا الوسط بإنتاج ميكرو درنات عالية الجودة (قطرها 1,4 سم ووزنها 1,2 غرام). في المقابل، زاد الوسط السائل من عدد الميكرو درنات، لكن حجمها ووزنها ظلاً منخفضين.

أثرت الوسائط الزراعية ذات التركيزات المختلفة للفحم المنشط (CA) بشكل كبير على إنتاج الميكرو درنات في النوعين المدروسين. تم تسجيل العدد الأمثل من الميكرو درنات مع مجموعة التحكم ( $4,47 \pm 0,51$ ) للسنف المطلوب. ومع ذلك، بالنسبة لطول ووزن الميكرو درنات المنتجة، تم تسجيل أفضل الغلات (1,04 سم و 1,06 غرام) بجرعة 2 غرام في اللتر للسنف المطلوب بينما أدى تركيز CA الأعلى (10 غرام في اللتر) إلى تحفيز نمو ميكرو درنات *Spunta* (1,16 سم و 0,94 غرام). من ناحية أخرى، تم إيجاد وسائط MS شبه سائلة مع إضافة thidiazuron (TDZ) بمقدار 1 ملغ في اللتر أكثر ملاءمة للميكرو درن مقارنة بالعلاجات الهرمونية الأخرى التي تم اختبارها. أظهرت نتائجنا أيضاً أن استبدال السكرورز بالمانيتول أو السوربيتول لم يحسن الغلة. على العكس من ذلك، لاحظنا تأثيراً سلبياً لهذه السكريات على قطر ووزن الميكرو درنات المنتجة.

تسبب الإجهاد اللاأحيائي المطبق في المختبر (المالح والمائي) في تأثيرات سلبية على استمالة و نمو الميكرو درنات للبطاطا. في الواقع، يعد تقلص معايير النمو المختلفة التي تمت دراستها مقارنة بالشاهد أمراً مهماً لطول البراعم وعدد الأوراق وطول الجذر.

فيما يتعلق بحفظ الميكرو درنات، كشفت نتائجنا عن التأثير الملحوظ لوزن الميكرو درنات المخزنة على 4 درجات مئوية على الإنبات. من بين الفئات الثلاث من الميكرو درنات التي تم اختبارها، أظهرت فئة الوزن المتوسط (5,0 إلى 1 غرام) أعلى نسبة إنبات (65%). ومع ذلك، فقد أسفرت تجارب الحفظ بالتبريد عن نتائج مشجعة. حيث كان لدى ميكرو درنات *Désirée* المجففة لمدة 90 دقيقة على هلام السيليكات أعلى معدل إنبات بعد التخزين في النيتروجين السائل على -196 درجة مئوية.

**الكلمات المفتاحية:** *Solanum tuberosum* L.، الصنف، إنتاج البذور، الزراعة المخبرية، الميكرو درنات، agar-، agar، الفحم المنشط، منظمات النمو، الإجهاد اللاأحيائي، التجفيف، الحفظ بالتبريد.

*Abréviations*

<b>%</b>	Pourcentage
<b>(B)</b>	Chair blanche
<b>(R)</b>	Chair rouge
<b>±SD</b>	± erreur standard dérivée
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>μmol</b>	Micromole
<b>ABA</b>	Acide abscissique
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AIA</b>	Acide indole acétique
<b>ANA</b>	Acide 1-naphtalène acétique
<b>ANOVA</b>	Analyse de la variance
<b>BAP</b>	6-benzylaminopurine
<b>C</b>	Carbone
<b>CA</b>	Charbon actif
<b>CK</b>	Cytokinine
<b>cm</b>	Centimètre
<b>cv</b>	Cultivar
<b>DMRT</b>	Test des plages multiples de Duncan
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxyde
<b>Dr</b>	<i>Désirée</i>
<b>g</b>	Gramme
<b>GA<sub>3</sub> ou AG<sub>3</sub></b>	Acide gibbérellique
<b>h</b>	Heure
<b>ha</b>	Hectare
<b>kg</b>	Kilogramme
<b>l</b>	Litre
<b>LN</b>	Liquid nitrogen
<b>m</b>	Mètre
<b>M</b>	Mole
<b>meq</b>	Milliéquivalent
<b>mg</b>	Milligramme
<b>min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>mm</b>	Millimètre
<b>MS</b>	Milieu de Murashige et Skoog (1962)
<b>mT</b>	<i>méta</i> -Topoline
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium
<b>P</b>	Seuil de signification
<b>PEG</b>	Poly éthylène glycol
<b>PGR</b>	Régulateur de croissance
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>QTL</b>	Quantitative Trait Locus
<b>R</b>	Coefficient de corrélation de Pearson
<b>s</b>	Seconde
<b>S.</b>	<i>Solanum</i>
<b>Sp</b>	<i>Spunta</i>
<b>t</b>	Tonnes
<b>TDZ</b>	Thidiazuron



## *Liste des figures*

<b>Figure 1.</b> Carte chronologique des principaux événements de la diffusion mondiale de la pomme de terre (Brown et Henfling, 2014).-----	<b>5</b>
<b>Figure 2.</b> Un plant typique de pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) et sa morphologie (Wohleb et al, 2014).-----	<b>7</b>
<b>Figure 3.</b> L'anatomie externe et interne d'un tubercule de pomme de terre (Wohleb et al, 2014).---	<b>8</b>
<b>Figure 4.</b> Les phases du cycle végétatif de la pomme de terre (ITCMI, 2018).-----	<b>10</b>
<b>Figure 5.</b> Stades de tubérisation montrant la morphologie du stolon et du tubercule (Wohleb et al, 2014).-----	<b>12</b>
<b>Figure 6.</b> Représentation schématique de divers facteurs biotiques et abiotiques affectant la production de pommes de terre (Hameed et al, 2020).-----	<b>17</b>
<b>Figure 7.</b> Distribution mondiale des rendements de la pomme de terre (Devaux et al, 2021).-----	<b>21</b>
<b>Figure 8.</b> Plusieurs régulateurs clés sont impliqués pendant le développement du tubercule, constituant un réseau complexe (Saidi et Hajibarat, 2021).-----	<b>31</b>
<b>Figure 9.</b> Germination de semence des cultivars (A): <i>Désirée</i> (cv.Dr), (B): <i>Spunta</i> (cv.Sp).-----	<b>36</b>
<b>Figure 10.</b> Types de contaminants microbiologiques observés sur les milieux de culture et les vitroplant après une semaine (A) et deux semaines de culture (B).-----	<b>44</b>
<b>Figure 11.</b> Aspect morphologique des vitroplants de pomme de terre produits <i>in vitro</i> .-----	<b>45</b>
<b>Figure 12.</b> Effets de l'agar-agar à différentes concentrations sur la longueur de la tige (A), le nombre de feuilles (B) et la longueur de racines par vitroplant (C) de deux cultivars de pomme de terre <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> .-----	<b>46</b>
<b>Figure 13.</b> Aspect morphologique de microtubercules induits et développés après 4 semaines (A) et 12 semaines (B) de culture sur le milieu semi-solide.-----	<b>49</b>
<b>Figure 14.</b> Effets de l'agar-agar sur le nombre de microtubercules par vitroplant (A), le diamètre (B) et le poids des microtubercules (C) des deux cultivars de pomme de terre étudiés <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> .-----	<b>50</b>
<b>Figure 15.</b> Effet du charbon actif (CA) sur le nombre de microtubercules par vitroplant (A), le diamètre (B) et le poids des microtubercules (C) des deux cultivars de pomme de terre étudiés <i>Désirée</i> (Dr) et <i>Spunta</i> (Sp).-----	<b>52</b>
<b>Figure 16.</b> Aspect qualitatif des microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr : <i>Désirée</i> et Sp : <i>Spunta</i> ) après 12 semaines de culture sur le milieu MS contenant différentes concentrations d'agar-agar (A) et de charbon actif CA (B).-----	<b>58</b>

<b>Figure 17.</b> Effet de la cytokinine et sa concentration sur la production de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	<b>61</b>
<b>Figure 18.</b> Effet de la cytokinine et sa concentration sur le diamètre des microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	<b>62</b>
<b>Figure 19.</b> Effet de la cytokinine et sa concentration sur le poids des microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	<b>63</b>
<b>Figure 20.</b> Aspect qualitatif des microtubercules produits chez deux cultivars de pomme de terre étudiés en fonction de la nature et la concentration des cytokinines testés après 12 semaines de culture.-----	<b>66</b>
<b>Figure 21.</b> Aspect qualitatif des microtubercules produits chez deux cultivars de pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ) après 12 semaines de culture sur des milieux contenant différentes combinaisons hormonales. -----	<b>70</b>
<b>Figure 22.</b> Aspects morphologiques des vitroplants de <i>Solanum tuberosum</i> L. soumis au stress salin. (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	<b>77</b>
<b>Figure 23.</b> Aspects morphologiques des vitroplants de <i>Solanum tuberosum</i> L. soumis au stress salin. (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	<b>79</b>
<b>Figure 24.</b> Influence de la durée de stockage sur la germination de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> (Dr) et <i>Spunta</i> (Sp). -----	<b>81</b>
<b>Figure 25.</b> Germination <i>in vitro</i> de microtubercules à poids moyen (0,5-1 g) conservés à 4 °C.---	<b>82</b>
<b>Figure 26.</b> Cryoconservation des microtubercules de pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.). --	<b>86</b>

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1.</b> Origine et évolution de la pomme de terre (Brar et al, 2021).-----	5
<b>Tableau 2.</b> Position taxonomique de la pomme de terre (Spooner et al, 2014).-----	6
<b>Tableau 3.</b> Description agro-morphologiques pour la caractérisation des cultivars de pomme de terre (Aksoy et al, 2021). -----	13
<b>Tableau 4.</b> Effets du stress dû à la chaleur et au déficit hydrique à différents stades de développement de la pomme de terre (Singh et al, 2019). -----	15
<b>Tableau 5.</b> Principales techniques d'amélioration <i>in vitro</i> de la pomme de terre (Gosal et Wan, 2018).-----	25
<b>Tableau 6.</b> Synthèse des étapes de la cryoconservation des plantes (Roque-Borda et al, 2021). ---	33
<b>Tableau 7.</b> Caractéristiques de deux variétés de pommes de terre (ECPD, 2021). -----	34
<b>Tableau 8.</b> Composition du milieu de culture MS (Murashige et Skoog, 1962) et les vitamines de Morel (Morel et Wetmore, 1951). -----	37
<b>Tableau 9.</b> Solvants, conditions de stockage et stérilisation des régulateurs de croissances testés (Benmahioul, 2009).-----	39
<b>Tableau 10.</b> Différentes concentrations et combinaisons de régulateurs de croissance testées pour évaluer la microtubérisation chez les deux génotypes de pommes de terre étudiés. -----	40
<b>Tableau 11.</b> Effet de la concentration en agar-agar du milieu de culture sur les taux de contamination et de régénération <i>in vitro</i> de deux variétés de pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ). -----	44
<b>Tableau 12.</b> Effets de la concentration en agar-agar et en charbon actif (CA) sur la croissance de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	48
<b>Tableau 13.</b> Analyse factorielle multivariée des effets de l'agar-agar, du charbon actif et du cultivar sur les caractéristiques morphologiques des microtubercules de la pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ). -----	55
<b>Tableau 14.</b> Optimisation de la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ) cultivés sur le milieu nutritif MS additionnés de diverses concentrations d'agar-agar et du charbon actif (CA). -----	56
<b>Tableau 15.</b> Corrélations entre les caractéristiques des microtubercules et les effets de l'agar-agar et de charbon actif (CA).-----	59
<b>Tableau 16.</b> Effet combiné TDZ/GA3 sur la production de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	68

<b>Tableau 17.</b> Effet combiné TDZ/AIB sur la production de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. <i>Désirée</i> , Sp. <i>Spunta</i> ).-----	<b>69</b>
<b>Tableau 18.</b> Variation de la longueur de la racine, la longueur des pousses et le nombre de feuilles des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ) après 12 semaines de culture sur différentes concentrations de mannitol -----	<b>72</b>
<b>Tableau 19.</b> Effet de la concentration en mannitol sur la production <i>in vitro</i> de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	<b>73</b>
<b>Tableau 20.</b> Variation de la longueur de la racine, la longueur des pousses et le nombre de feuilles des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ) après 12 semaines de culture sur différentes concentrations en sorbitol. -----	<b>73</b>
<b>Tableau 21.</b> Effet de la concentration en sorbitol sur la production <i>in vitro</i> de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	<b>74</b>
<b>Tableau 22.</b> Effet de la concentration en NaCl sur la croissance des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> -----	<b>75</b>
<b>Tableau 23.</b> Effet de la concentration en NaCl sur la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> .-----	<b>76</b>
<b>Tableau 24.</b> Effet de la concentration en PEG 6000 sur la croissance des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	<b>78</b>
<b>Tableau 25.</b> Effet de la concentration en PEG 6000 sur la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	<b>79</b>
<b>Tableau 26.</b> Effet de la durée de conservation à 4 °C sur le taux de germination de microtubercules de deux cultivars de <i>Solanum tuberosum</i> L., <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	<b>80</b>
<b>Tableau 27.</b> Effet du poids des microtubercules conservés à 4°C sur la germination de deux cultivars de pomme de terre ( <i>Désirée</i> : Dr et <i>Spunta</i> : Sp).-----	<b>82</b>
<b>Tableau 28.</b> Influence de la durée de déshydratation sur la teneur en eau des microtubercules de deux variétés de pomme de terre, <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> . -----	<b>83</b>
<b>Tableau 29.</b> Taux de survie et de germination des microtubercules de deux variétés de pomme de terre ( <i>Désirée</i> et <i>Spunta</i> ) après traitements de déshydratation et de cryoconservation. -----	<b>85</b>

Dédicaces iRemerciements iiRésumé iiiAbstract ivRésumé en arabe vListe des abreviations viListe des figures viiListe des tableaux viiiTable des matières ix

<b>Introduction générale .....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre I. Synthèse bibliographique.....</b>	<b>4</b>
<b>1 Généralités sur la pomme de terre.....</b>	<b>4</b>
1.1 Origine et historique de la pomme de terre .....	4
1.2 Taxonomie.....	5
1.3 Description de l'appareil caulino-foliaire.....	6
1.3.1 Appareil aérien .....	6
1.3.2 Appareil souterrain.....	7
1.3.2.1 Structure externe du tubercule.....	8
1.3.2.2 Structure interne du tubercule .....	8
1.4 Physiologie et cycle de développement.....	9
1.4.1 Cycle sexué .....	9
1.4.2 Cycle végétatif.....	9
1.4.2.1 Dormance .....	9
1.4.2.2 Germination.....	10
1.4.2.3 Croissance .....	11
1.4.2.4 Tubérisation.....	11
1.5 Principales variétés.....	12
1.6 Stress abiotiques .....	14
1.6.1 Le froid.....	14
1.6.2 La chaleur .....	14
1.6.3 Le déficit hydrique .....	15
1.6.4 La salinité .....	16
1.7 Stress biotiques.....	16
1.7.1 Maladies bactériennes .....	16
1.7.2 Maladies fongiques .....	18
1.7.3 Insectes nuisibles.....	19
1.7.4 Némathodes.....	19
1.7.5 Phytovirus.....	19
1.8 Importance économique de la pomme de terre .....	20
<b>2 Modes de propagation de la pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i> L.).....</b>	<b>22</b>
2.1 Techniques classiques de multiplication de la pomme de terre .....	22
2.1.1 Pré-germination des tubercules .....	22
2.1.2 Sectionnement des plants .....	22
2.2 Biotechnologie et amélioration de la production de la pomme de terre .....	23
2.2.1 Micropropagation <i>in vitro</i> de la pomme de terre.....	23
2.2.2 Culture de méristèmes .....	23
2.2.3 Embryogenèse somatique.....	24

2.3	Autres voies d'amélioration de la production de la pomme de terre.....	26
2.4	Microtubérisation .....	26
2.4.1	Les facteurs influençant la microtubérisation .....	27
2.4.1.1	Génotype .....	27
2.4.1.2	Type d'explant.....	27
2.4.1.3	Type de milieux.....	28
2.4.1.4	Saccharose.....	28
2.4.1.5	Température .....	29
2.4.1.6	Photopériode.....	29
2.4.2	Phytorégulateurs de croissances .....	30
2.5	Stockage, conservation <i>in vitro</i> et cryoconservation.....	32
<b>Chapitre II. Matériels et méthodes .....</b>		<b>34</b>
<b>1</b>	<b>Matériel végétal .....</b>	<b>34</b>
1.1	Provenance du matériel végétal.....	34
1.2	Caractères descriptifs des variétés utilisées.....	34
1.3	Type d'explants utilisés.....	35
<b>2</b>	<b>Méthodes expérimentales .....</b>	<b>35</b>
2.1	Préparation du matériel végétal.....	35
2.2	Stérilisation des explants .....	36
2.3	Composition minérale des milieux de culture utilisés.....	36
2.4	Mise en culture .....	37
2.4.1	Micropropagation .....	37
2.4.2	Microtubérisation .....	38
2.5	Conditions de culture .....	38
2.6	Production de microtubercules.....	38
2.6.1	Effet de la concentration en agar-agar.....	38
2.6.2	Effet du charbon actif (CA).....	39
2.6.3	Effet des régulateurs de croissance .....	39
2.6.4	Effet de la source du carbone (sucres).....	40
2.7	Etude de la tolérance <i>in vitro</i> aux stress abiotiques.....	40
2.7.1	Effet de la contrainte saline .....	40
2.7.2	Effet du stress hydrique.....	41
2.8	Etude de la conservation des microtubercules .....	41
2.8.1	Effet du calibrage sur la conservation des microtubercules .....	41
2.8.2	Effet de la déshydratation sur la cryoconservation des microtubercules.....	41
2.9	Paramètres d'appréciation .....	42
2.10	Analyse statistique.....	42
<b>Chapitre III. Résultats et discussion .....</b>		<b>43</b>
<b>1</b>	<b>Effet de l'assainissement des vitroplants.....</b>	<b>43</b>
1.1	Taux de contamination des explants .....	43
1.2	Développement des vitroplants .....	45
<b>2</b>	<b>Effets des milieux de culture et du charbon actif sur la production des microtubercules .....</b>	<b>47</b>
2.1	Effet de l'agar-agar.....	49
2.2	Effet du charbon actif sur la production des microtubercules .....	51
2.3	Analyse de la variance ANOVA des paramètres morphologiques de microtubercules ....	54
2.4	Interaction agar-agar/charbon actif/génotype sur la production de microtubercules .....	56

2.5	Analyse de la relation entre les effets de l'agar-agar et du charbon actif (CA) sur les caractéristiques des microtubercules produits.....	59
<b>3</b>	<b>Effet des phytohormones sur la production de microtubercules .....</b>	<b>60</b>
3.1	Effet des cytokinines (TDZ, <i>mT</i> , BAP).....	60
3.2	Effet combiné de TDZ/GA <sub>3</sub> .....	68
3.3	Effet combiné de TDZ/AIB.....	69
<b>4</b>	<b>Effet de la source carbonée sur le développement des vitroplants et des microtubercules .....</b>	<b>72</b>
4.1	Effet du mannitol.....	72
4.2	Effet du sorbitol.....	73
<b>5</b>	<b>Effet des stress abiotiques sur la tolérance de la pomme de terre .....</b>	<b>75</b>
5.1	Effet de la contrainte saline .....	75
5.1.1	Effet de NaCl sur le développement des vitroplants .....	75
5.1.2	Effet de NaCl sur la microtubérisation.....	76
5.2	Effet du stress hydrique.....	78
5.2.1	Effet de la concentration en PEG 6000 sur la croissance des vitroplants.....	78
5.2.2	Effet de la concentration en PEG 6000 sur la production de microtubercules.....	78
<b>6</b>	<b>Essais de conservation des microtubercules .....</b>	<b>80</b>
6.1	Effet de la durée de stockage sur la germination des microtubercules.....	80
6.2	Effet du poids des microtubercules sur la germination .....	82
6.3	Influence de la déshydratation des microtubercules sur la qualité physiologique .....	83
6.4	Effet de la cryoconservation sur la survie et la germination des microtubercules .....	84
	<b>Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>87</b>
<b>1</b>	<b>Conclusion générale .....</b>	<b>87</b>
<b>2</b>	<b>Perspectives.....</b>	<b>89</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>90</b>
	<b>Annexes</b>	
	<b>Publication</b>	

*Introduction*  
*générale*



## Introduction générale

La pomme de Terre (*Solanum tuberosum* L.) appartient à la famille des Solanacées, genre *Solanum* (Quezel et Santa, 1962). Cette famille regroupe plusieurs espèces connues telles que la tomate, le poivron et l'aubergine.

Originaire de l'Amérique du sud, la pomme de terre constitue une base alimentaire mondiale séculaire, avec une production totale estimée à 370,4 millions de tonnes sur environ 17,34 millions d'hectares (Djaman et al, 2021). En termes d'importance, elle est classée au quatrième rang, dans le monde après le riz, le maïs et le blé (Djebbour, 2015). En plus de son importance dans l'alimentation, la pomme de terre est également utilisée par voies biotechnologiques dans la production des vaccins contre le diabète et l'hépatite (Arakawa et Langridge, 1999).

La domestication de la pomme de terre a donné naissance à des cultivars dont la teneur en glycoalcaloïdes des tubercules est réduite, ce qui les rend plus appétissants ; entraînant une augmentation de la taille des tubercules et une amélioration de la fixation et du transport du carbone (Spooner et al, 2014; Machida-Hirano, 2015). Quelques rares pommes de terre sauvages rustiques ont également été croisées avec leurs parents cultivés pour améliorer la résistance aux maladies, le rendement et la qualité pendant près d'un siècle (Jansky et al, 2013). Ces croisements ont permis des améliorations très commercialisables, telles que la qualité de la transformation et la résistance à certains phytovirus et nématodes (Douches et al, 1996; Hirsch et al, 2013; Bethke et al, 2017). Toutefois, leur faible diversité génétique a conduit à une vulnérabilité aux ravageurs et aux maladies (Muthuraj et al, 2016; Chen et al, 2018; Mora et al, 2021).

La pomme de terre peut fournir plus de glucides, de protéines, de minéraux et de vitamines par unité que d'autres cultures vivrières potentielles (Zaheer et Akhtar, 2016). Le tubercule de la pomme de terre est riche en amidon, en protéines et en autres nutriments importants, ce qui fait de la pomme de terre l'une des plus importantes cultures vivrières et légumières (Abelenda et al, 2019). Au cours des deux dernières décennies, la culture et l'utilisation de la pomme de terre ont augmenté de façon notable dans les pays en développement (Zaheer et Akhtar, 2016). En Algérie, la pomme de terre qui a été introduite au milieu du 19<sup>ème</sup> siècle, est devenue la culture légumière la plus importante où sa consommation évaluée à 21,7 kg en 1967 a augmenté aux alentours de 34 kg/habitant/an en 1980, et se situerait à 113 kg/habitant/an en 2015, faisant ainsi de ce produit agricole un élément structurant de la ration alimentaire de l'algérien (Bessaoud et al, 2019).

Actuellement, la production de pomme de terre ne satisfait pas les besoins du consommateur, ce qui fait de nous un pays dépendant de l'étranger surtout en matière de semences. Compte tenu de l'importance de la pomme de terre et des problèmes que rencontre sa production en Algérie, un accent particulier est en train de se mettre en place, en vue du développement de cette culture. En effet, la pomme de terre peut y constituer une production de diversification très intéressante en raison de son cycle végétatif court et de son potentiel de production important. Des rendements élevés au champ peuvent être assurés par l'utilisation des semences de haute qualité (Calori et al, 2017). Cependant, dans la culture de la pomme de terre, les semences sont plus chères, représentant de 40 à 50% du coût de production (Buckseth et Singh, 2018).

Comme d'autres pays Africains, l'Algérie dépend de l'extérieur pour son approvisionnement en semences. Cependant, avec l'évolution des biotechnologies végétales, notamment la maîtrise de la multiplication *in vitro*, il paraît possible de concevoir la mise sur pieds d'une production locale autonome de semences, de manière à organiser, adapter et maîtriser un système de production allant du laboratoire au champ.

La production de semences saines est très cruciale pour soutenir la productivité de pomme de terre. Lentement, la micropropagation remplace la multiplication conventionnelle des pommes de terre (Naik et Karihaloo, 2007; Moeini et al, 2011). La technique se caractérise par une grande flexibilité et une rapidité de multiplication donnant des propagules de plantation plus élevées (Pruski, 2001; Muthuraj et al, 2016). On s'est particulièrement intéressé aux techniques de production de microtubercules car ceux-ci sont aseptiques (Park et al, 2009; Li et al, 2020), se manipulent facilement et nécessitent peu d'espace d'entreposage. Par ailleurs, les microtubercules peuvent être plantés directement au champ pour la production d'une très grande quantité de tubercules (Haltermann et al, 2016). Ils offrent dès lors une alternative très intéressante à la micropropagation conventionnelle qui se réalise par le microbouturage de tiges (Kaur, 2018).

La microtubérisation est un phénomène complexe qui dépend à la fois des facteurs environnementaux et génétiques (Omoloko et al, 2003). Parmi ces facteurs, les régulateurs de croissance exogènes et la source carboné (Kefi et al, 2000; Omokolo et al, 2003) sont les plus déterminants dans le processus de tubérisation *in vitro* (Mes et Menge, 1954; Omokolo et al, 2003). Les microtubercules produits peuvent servir de semences de qualité après acclimatation, et sont convenables aussi pour les manipulations et la conservation du matériel génétique (Kwiatkowski et al, 1988).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui avait pour objectif principal d'induire la microtubérisation pour la production de semences chez la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) dans différents milieux de culture où l'effet de l'agar-agar, du charbon actif, des régulateurs de croissance et de la source carboné sont étudiés.

Notre travail a porté également sur le comportement des microplants de pomme de terre soumis à deux contraintes abiotiques (stress salin et hydrique) en vue d'une sélection précoce de géotypes tolérants. Cette thèse se termine par une étude tenant sur la conservation des microtubercules à 4°C et à l'azote liquide à -196°C (la cryoconservation).

*Synthèse*  
*bibliographique*

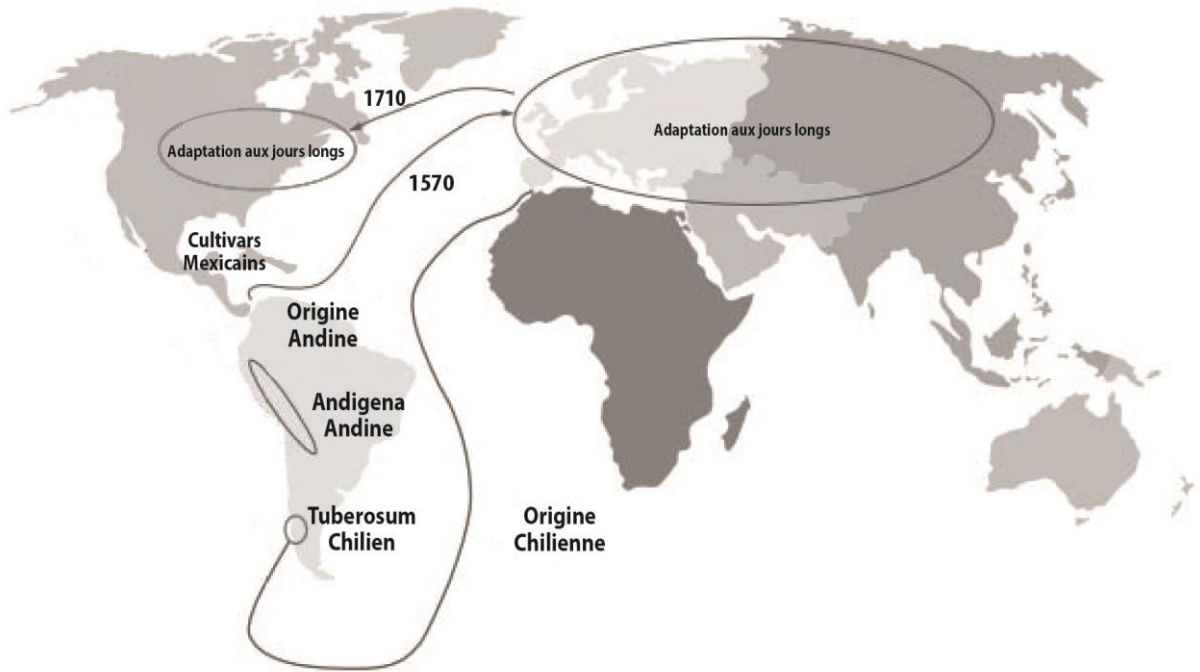
## Chapitre I. Synthèse bibliographique

### 1 Généralités sur la pomme de terre

#### 1.1 Origine et historique de la pomme de terre

La série *tuberosa* (contenant *Solanum tuberosum*) et les autres séries de la sous-section *potatoe* ont deux centres de diversité. L'un est un terrain andin qui s'étend sur une longue période en Argentine, en Bolivie, en Colombie, en Équateur, au Pérou et au Venezuela, tandis que l'autre se trouve dans le centre du Mexique (Figure 1) (Swaminathan, et Magoonm, 1961; Ugent, 1968; Child, 1990; Hawkes, 1994; Graves, 2001; Spooner et al, 2007; Smith, 2012; Malhi et al, 2021). Cette théorie est basée sur le fait que les plantes initialement introduites en Europe avaient une floraison tardive et une tubérisation, et sur la description morphologique (Howard, 1970). Une telle transition peut avoir lieu dans une période assez courte d'environ dix ans de sélection (Simmonds, 1966). Selon une autre école de pensée, après l'épidémie de mildiou de la pomme de terre en Europe, un nouveau matériel génétique de *S. tuberosum* subsp. *tuberosum*, originaire du Chili, a été introduit en Europe (Malhi et al, 2021).

Grun (1990) et Hawkes (1994) estiment que l'espèce cultivée *S. stenotomum* est la plus primitive de tout autre matériel cultivé. *S. leptophyes* Bitt. a été théorisé comme le progéniteur probable de *S. stenotomum* sur la base de la similarité morphologique (Malhi et al, 2021). Le premier matériel cultivé de *S. stenotomum* a également été considéré comme étant domestiqué à partir du pool génétique complexe de *S. brevicaule* (Correll, 1962; Ugent, 1968; Grun, 1990; Van den Berg et al, 1998; Miller et Spooner, 1999). Avec l'avènement des techniques moléculaires, sept haplotypes chloroplastiques différents distingués dans une sélection d'espèces sauvages et cultivées (Hosaka, 1986). Kardolus et al. (1998) ont révélé que *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* forme un groupe avec *S. multidissectum* et *S. canasense* dans le complexe de Brévicaule. On pense que *S. tuberosum* est un tétraploïde droit de *S. stenotomum* (Tableau 1), mais certaines preuves soutiennent fortement l'origine allotetraploïde de *S. tuberosum* (Kaushik, 2021). Selon un autre rapport, les espèces cultivées se trouvent dans le même clade que celui de Brévicaule du nord qui comprend *S. bukasovii*, *S. ambosinum*, *S. canasense*, *S. leptophyes*, *S. achacachense* Card. et *S. multidissectum* (Spooner et al, 2005). L'origine multiple de *S. stenotomum* serait la cause de l'augmentation des populations initiales de *S. tuberosum* subsp. *andigena* (Sukhotu et Hosaka, 2006; Brar et al, 2021).



**Figure 1.** Carte chronologique des principaux événements de la diffusion mondiale de la pomme de terre (Brown et Henfling, 2014).

**Tableau 1.** Origine et évolution de la pomme de terre (Brar et al, 2021).

Série N°	Espèce <i>Solanum</i>	Nombre de chromosomes	Niveau de ploïdie
1	<i>Solanum ajanhuiri</i> <i>Solanum goniocalyx</i> <i>Solanum phureja</i> <i>Solanum stenotomum</i>	$2n = 2x = 24$	Diploïde
2	<i>Solanum chaucha</i> <i>Solanum juzepczukii</i>	$2n = 3x = 36$	Triploïde
3	<i>Solanum tuberosum ssp. tuberosum</i> <i>Solanum tuberosum ssp. andigena</i>	$2n = 4x = 48$	Tétraploïde
4	<i>Solanum curtilobum</i>	$2n = 5x = 60$	Pentaploïde

## 1.2 Taxonomie

La pomme de terre a été décrite par Linné en 1753 (Tableau 2). Elle appartient à la grande famille botanique des solanacées (Linnaeus, 1753). *S. tuberosum* diverge en deux sous-espèces (Tableau 1):

a- *andigena* : c'est une diploïde cultivée principalement dans les régions d'Amérique centrale et du Sud et adaptée aux conditions de jours courts (Figure 1).

b- *tuberosum* : C'est une pomme de terre tétraploïde cultivée dans le monde entier (Hanneman, 1994; Malhi et al, 2021). On pense généralement que la sous-espèce *tuberosum*

descend de la sous-espèce *andigena* introduite en Europe qui s'est ensuite adaptée à des jours plus longs.

La section *Petota* est divisée en 8 espèces cultivées (Tableau 1) et 228 espèces sauvages de pomme de terre, qui sont ensuite regroupées en 21 séries taxonomiques (19 tubéreuses + 2 non tubéreuses) (Spooner et al, 2014; Brar et al, 2021). Parmi les espèces cultivées, seule *S. tuberosum* ssp. *tuberosum* est largement cultivée dans le monde entier, tandis que les autres sont cultivées surtout dans les pays andins.

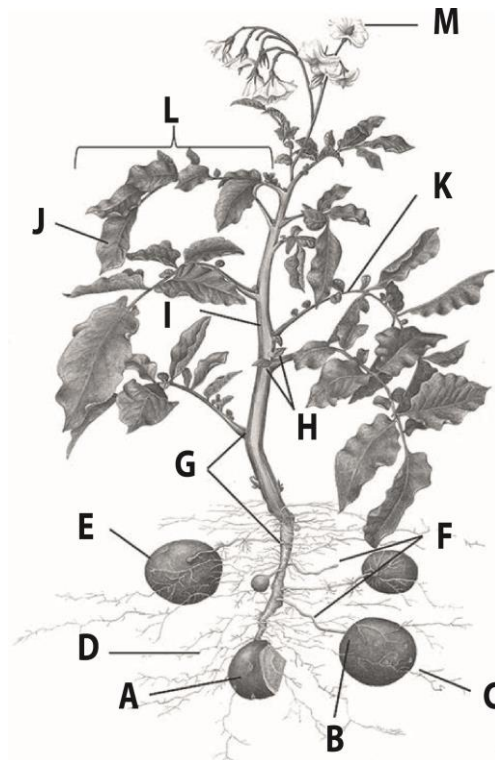
**Tableau 2.** Position taxonomique de la pomme de terre (Spooner et al, 2014).

<b>Rang taxonomique</b>	<b>Nom Latin</b>
Famille	Solanaceae
Sous-famille	Solanoideae
Tribu	Solaneae
Genre	<i>Solanum</i> L.
Sous-genre	<i>Potatoe</i> (G. Don) D'Arcy
Section	<i>Petota</i> Dumortier
Sous-section	<i>Potatoe</i> G. Don
Sous-séries	<i>Rotata</i> Hawkes
Séries	<i>Tuberosa</i> (Rydb.) Hawkes
Espèces	<i>Solanum tuberosum</i> L.
Sous-espèces	<i>Tuberosum</i>

### 1.3 Description de l'appareil caulino-foliaire

#### 1.3.1 Appareil aérien

À mesure que les tiges de la pomme de terre s'allongent, les feuilles se forment en spirale ; les premières feuilles se forment au bas de la plante et les plus jeunes se développent à partir du haut à mesure que la tige continue de croître vers le haut. Le plant développe une feuille composée à chaque nœud de la tige. La feuille composée se compose d'une foliole terminale et d'une rangée de folioles opposées, toutes attachées à un pétiole. Le plant forme généralement 10 à 13 feuilles, puis produisent une fleur (Figure 2G-M). La floraison varie considérablement d'une variété à l'autre. Les fleurs de pomme de terre ont une partie femelle (pistolet) et une partie mâle (étamine), et la partie extérieure (corolle) peut être blanche, rose, rouge, bleue ou violette (Thornton, 2020).



**Figure 2.** Un plant typique de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) et sa morphologie (Wohleb et al, 2014). A : Morceau de tubercule. B : Extrémité basale (tige). C : Extrémité apicale (bourgeon). D : Racines. E : Tubercule. F : Stolons. G : Nœuds. H : Feuilles stipules. I : Tige. J : Foliole terminal. K : Pétiole. L : Feuille composée. M : Fleur.

### 1.3.2 Appareil souterrain

Le développement des racines commence peu après la germination. Les pommes de terre ont un système racinaire relativement peu profond et clairsemé. Les stolons sont des tiges modifiées qui poussent horizontalement. Dans les trois premières semaines suivant l'émergence, les plantes commencent généralement à produire des stolons au niveau des nœuds souterrains situés au-dessus du plant. Les extrémités des stolons vont commencer à gonfler, entraînant l'initiation de nouveaux tubercules. Un tubercule de pomme de terre est en fait une tige modifiée (Figure 2 A-G) qui possède toutes les structures internes et externes caractéristiques du tissu de la tige. La fonction première d'un tubercule de pomme de terre est de stocker l'énergie chimique produite par les feuilles sous forme d'hydrates de carbone. Lorsque le tubercule commence à germer, ces réserves d'énergie sont mobilisées pour assurer la croissance de la plante (Thornton, 2020).

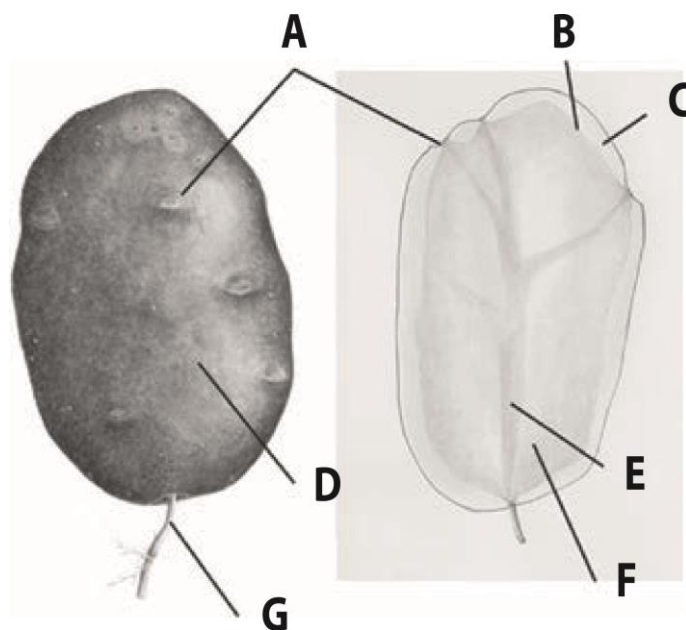


### 1.3.2.1 Structure externe du tubercule

La surface extérieure du tubercule est recouverte de tissu cutané (périderme) et d'un certain nombre de petits pores appelés "lenticelles". La peau protège le tubercule de la perte d'humidité et de l'invasion de certains agents pathogènes, tandis que les lenticelles permettent l'échange de gaz à l'intérieur et à l'extérieur du tubercule. Les yeux, qui sont en fait des bourgeons foliaires non développés, sont également visibles à la surface (Figure 3A,D,G). Chaque œil comporte trois bourgeons, l'un étant primaire et les autres secondaires (ou axillaires) (Thornton, 2020).

### 1.3.2.2 Structure interne du tubercule

Une coupe transversale d'un tubercule montre une région externe de tissu de stockage (le cortex), un anneau de tissu vasculaire, une région de tissu de stockage interne (périmédullaire) et un anneau interne quelque peu translucide ou de couleur claire (la moelle) (Figure 3B,C,E,F). Chacune de ces structures présente des caractéristiques différentes, comme la teneur en amidon et en nutriments, ainsi que la taille des cellules (Thornton, 2020).



**Figure 3.** L'anatomie externe et interne d'un tubercule de pomme de terre (Wohleb et al, 2014).

A : Nœud (œil). B : Anneau vasculaire. C : Cortex. D : Périderme (peau). E : Moelle. F : Tissu périmédullaire. G : Stolon.

## 1.4 Physiologie et cycle de développement

La pomme de terre produit un fruit qui contient de véritables graines pouvant être utilisées pour la propagation. Elle se distingue des principales cultures vivrières par le fait qu'elle est reproduite en plantant du tubercule au lieu de véritables graines (Thornton, 2020).

### 1.4.1 Cycle sexué

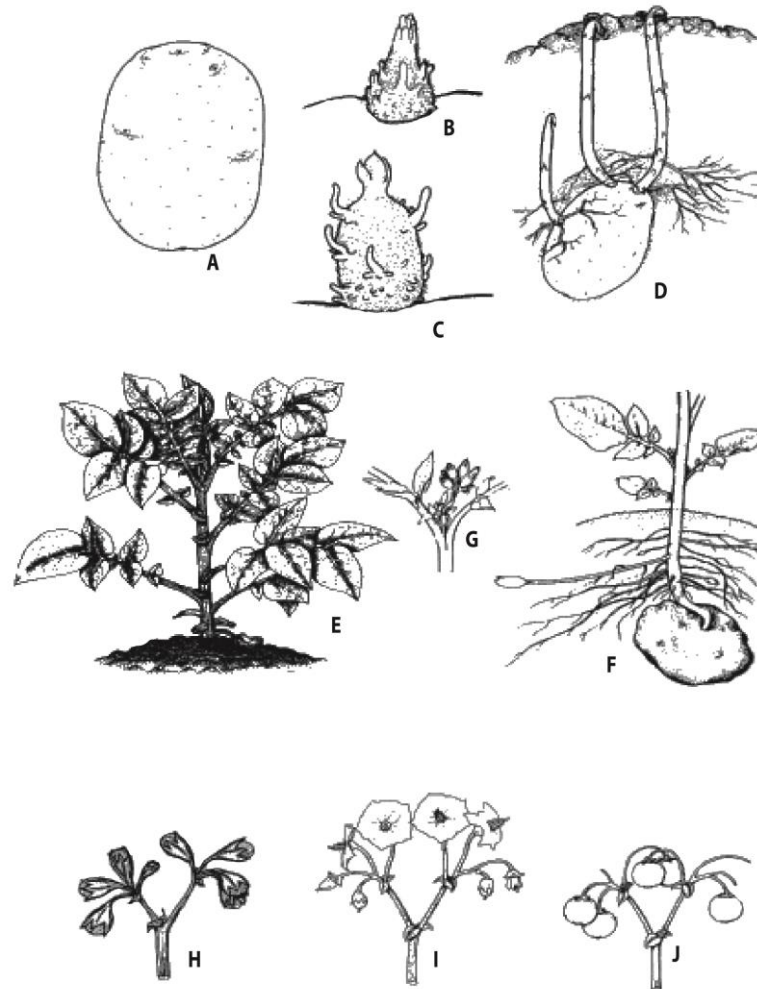
Les plants de pomme de terre peuvent être produits à partir de semences botaniques ou sexuelles, mais ces graines (vraies semences) (Figure 4) sont rarement utilisées, car elles sont génotypiquement variables et donnent naissance à des plants dont les caractères peuvent être complètement différents de ceux des plantes parentales (Burton, 1989 ; Allen et al, 1992). Le Centre International de la Pomme de Terre (CIP) a fait des efforts pour améliorer les graines en sélectionnant des lignées parentales qui produisent une descendance plus uniforme avec de bons caractères agronomiques (Golmirzaie et al, 1994). Ces cultivars sont des sélections clonales avec des caractéristiques spécifiques qui ne sont fixées que lorsqu'elles sont propagées avec des tissus végétatifs (Wohleb et al, 2014).

### 1.4.2 Cycle végétatif

La croissance d'un plant de pomme de terre peut être passée par quatre étapes: dormance des tubercules, germination, croissance et tubérisation (Figure 4). Le passage d'un stade à l'autre varie en fonction de certains facteurs tels que la température, le taux de l'humidité et la variété (Thornton, 2020).

#### 1.4.2.1 Dormance

La dormance est déterminée par le temps qui s'est écoulé entre la récolte des tubercules et la replantation ultérieure, ainsi que par le degré d'exposition du tubercule à des températures chaudes (Thornton, 2020). La première phase de la dormance du tubercule est appelée "repos" (Figure 4A) et est régulée par des processus physiologiques internes. Après la période de repos, les tubercules peuvent continuer à être dormants à cause de facteurs externes, en particulier les basses températures (Wohleb et al, 2014).



**Figure 4.** Les phases du cycle végétatif de la pomme de terre (ITCMI, 2018).

A : Tubercules sans germes. B : Fin de dormance. C : Début formation des racines. D : Début de levée. E : Développement des feuilles. F : Formation des tubercules. G : Début floraison. H : Apparition de l'inflorescence. I : Floraison. J : Formation des baies.

#### 1.4.2.2 Germination

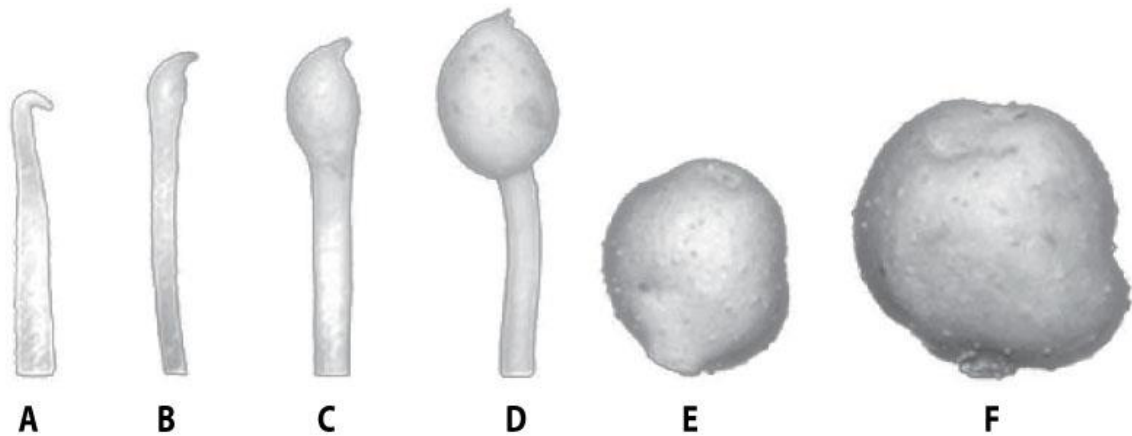
En général, selon l'âge physiologique du tubercule et le cultivar, seul le bourgeon primaire (apical) d'un œil se développe (Figure 4B,C), mais s'il est enlevé ou blessé, les bourgeons secondaires deviendront actifs (Figure 4D). La dominance apicale fait que les yeux situés à l'extrémité apicale des tubercules germent avant les yeux situés à l'extrémité basale. Elle est contrôlée par l'auxine qui est produit dans le méristème apical (Young et al, 2014). Le degré de dominance apicale détermine le nombre de tiges produites par plant, ce qui a une incidence sur la formation des tubercules, le nombre de tubercules par plant et la distribution de la taille des tubercules (Knowles et Knowles, 2006).

**1.4.2.3 Croissance**

Le développement de la plante désigne la période de croissance allant de la germination jusqu'à l'initiation de nouveaux tubercules, ce qui inclut le développement des racines et des tiges. Les conditions de température et d'humidité jouent un rôle clé dans la détermination du taux de développement des plantes pendant ce stade de croissance. L'initiation des tubercules est définie au cours duquel le stolon cesse de croître et l'extrémité gonfle jusqu'à deux fois le diamètre du stolon. Pour de nombreuses variétés de pommes de terre, ce phénomène se produit au début de la floraison (Figure 4E-I), bien qu'il n'y ait pas de relation de cause à effet entre ces deux événements (Thornton, 2020).

**1.4.2.4 Tubérisation**

Les tubercules sont formés sous terre sur des structures en forme de tige appelées stolons. Un stolon peut être défini comme une pousse latérale provenant des nœuds basaux de la tige, montrant une expansion foliaire négligeable, possédant une extrémité en forme de crochet et croissant de façon diagéotropique. La longueur et le nombre de stolons ainsi que le degré de ramification peuvent varier en fonction du génotype ou de l'environnement (Figure 5A-D). Dans des conditions environnementales favorables, les plants de pomme de terre sont incités à tubériser par la production d'un signal transmissible qui est transporté basipétalement des feuilles à l'extrémité du stolon en croissance, où il favorise la tubérisation (Wohleb et al, 2014). Le grossissement des tubercules (Figure 5E,F) est défini par le processus d'accumulation de la matière sèche dans les tubercules à la suite de la translocation des hydrates de carbone produits par la photosynthèse dans les feuilles (Thornton, 2020).



**Figure 5.** Stades de tubérisation montrant la morphologie du stolon et du tubercule (Wohleb et al, 2014).

A : Stolon crochu sans gonflement apparent. B : Un léger gonflement sous l'apex entraîne un début de redressement du crochet apical. C : L'extrémité du stolon continue à gonfler jusqu'à ce que le crochet soit complètement ouvert ; Le tubercule en développement fait moins de deux fois le diamètre du stolon. D : Le tubercule continue à gonfler ; le tubercule en développement fait environ deux fois le diamètre du stolon. E : Tubercule de 0,6-1,5 g. F : Tubercule de 1,5-2,5 g.

### 1.5 Principales variétés

Aujourd'hui, plus de 4 800 variétés de pommes de terre provenant de 125 pays ont été largement distribuées dans le monde, notamment dans les régions tempérées, subtropicales et tropicales (Birch et al, 2012; Pieterse et Judd, 2014; Hameed et al, 2018; Seo et al, 2018). Malgré la diversité génétique, la plupart des cultivars modernes possèdent un patrimoine génétique limité en raison de similitudes génétiques avec les cultivars du début du XXe siècle (Ortiz, 2020). Le développement de nouveaux cultivars de pomme de terre par une sélection rigoureuse des génotypes est une tâche de sélection longue et difficile (Naeem et al, 2021).

Cent vingt variétés sont inscrites au catalogue Algérien des espèces cultivées. Cette inscription par caractérisation agro-morphologiques (Tableau 3) est obligatoire pour leur commercialisation, elles sont passées par un contrôle de certification des semences. Les principales variétés cultivées en Algérie sont : *Spunta* (à chair blanche), *Désirée* (à chair rouge), *Fabula* (B), *Nicola* (B), *Diamant* (B), *Timate* (B), *Atlas* (B), *Bartina* (R), *Kondor* (R) (ITCMI, 2018).

**Tableau 3.** Description agro-morphologiques pour la caractérisation des cultivars de pomme de terre (Aksoy et al, 2021).

<b>Caractères</b>	<b>Descriptions agro-morphologiques</b>
Hauteur de la plante	Une tige de mesure est utilisée pour mesurer la distance entre le sommet de la plante et la surface du sol, à la maturité de la plante.
Habitude de croissance	Extrêmement érigé, érigé, semi-érigé, découché
Formation des étamines	Pas de fleur, normal, ratatiné
Couleur de la corolle	Blanc, rose clair, rose, violet clair, violet foncé, bleu clair, violet.
Production de pollen	Aucune, peu, abondante
Numéro de tige principale	Nombre de tiges principales par plante
Couverture du feuillage	Pauvre, modéré, abondant
Dissection des feuilles	Feuilles non disséquées (feuilles entières), pinnatilobées, feuilles à peine disséquées, feuilles faiblement disséquées, feuilles moyennement disséquées, feuilles fortement disséquées, feuilles très fortement disséquées.
Fleuraison	Pas de bourgeons, avortement des bourgeons, rare, modéré, abondant.
Semaines avant la floraison	Nombre de semaines de l'émergence à la floraison (enregistré lorsque 50% des plantes d'une accession ont fleuri)
Date de récolte	Très précoce (< 80 jours), précoce (80-100 jours), modéré (101-110 jours), tardif (111-120 jours), très tardif (>120 jours)
Couleur de la chair du tubercule	Blanc, crème, jaune, jaune foncé, violet
Texture de la peau	Très rugueux, rugueux, intermédiaire, lisse et très lisse
Couleur de la peau des tubercules	Blanc-crème, jaune, brun, rose, rouge, violet
Forme du tubercule	Oblate (comprimé), rond, obovale, ovale, oblong, elliptique, long-oblong.
Couleur du germe	Blanc-vert, rose, rouge, violet, pourpre, brun
Distribution des germes	Absent, à l'apex, dispersé, à la base
Couleur des yeux du tubercule	Blanc-crème, jaune, brun, rose, rouge
Profondeur des yeux du tubercule	Saillant, peu profond, moyen, profond, très profond,
Distribution des yeux du tubercule	Prédominance apicale, distribution uniforme
Nombre moyen des yeux	Nombre des yeux par tubercule
Nombre total de tubercules	Nombre total de tubercules par plante
Total des tubercules commercialisables(%)	Pourcentage du nombre total de tubercules sains par plante ayant un calibre > 28 mm
Rendement total	Poids des tubercules en tonnes par hectare (t/ha)
Période de dormance (jours après la récolte)	Très courte (< 30 jours), courte (31-110 jours), moyenne (111-90 jours), longue (91-120 jours), très longue (>120 jours)

## 1.6 Stress abiotiques

L'acclimatation est un processus graduel au cours duquel il y a des changements dans presque toutes les caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques mesurables de la plante (Takahashi et al, 2013). Les plantes qui présentent une résistance au froid ou au gel sont aussi très probablement tolérantes à des stress tels que la chaleur, la sécheresse et la salinité (Pérez et al, 2000).

### 1.6.1 Le froid

La tolérance au stress froid est le plus ancien objectif de la sélection de pommes de terre pour le stress abiotique. La pomme de terre est une culture de saison fraîche, mais le froid a un effet négatif. Si la température descend en dessous du point de congélation, cela provoque la cristallisation de l'eau et d'autres minéraux dans les nervures des feuilles et entraîne des lésions dues au froid ou la nécrose des feuilles. En raison des dommages causés par le froid, on peut perdre toute la récolte (Kikuchi et al, 2015).

### 1.6.2 La chaleur

La température idéale pour la croissance aérienne de *S. tuberosum* est de 20-25 °C (Tableau 4) et la température optimale pour la formation des tubercules est de 15-20 °C (Rykaczewska, 2013). En fait, les températures élevées ont un effet négatif sur la formation et le développement des tubercules de la pomme de terre, et cette inhibition de la tubérisation a été liée à l'inhibition du signal de tubérisation (Hancock et al, 2014) et à une accumulation réduite de carbone dans l'amidon du tubercule à des températures élevées (Tiwari et al, 2020). L'identification de clones thermotolérants peut conduire à une augmentation du rendement de la pomme de terre face au réchauffement climatique (Gautam et al, 2021).

**Tableau 4.** Effets du stress dû à la chaleur et au déficit hydrique à différents stades de développement de la pomme de terre (Singh et al, 2019).

Stades de croissance	Température idéale en °C	Effet de la température élevée	Effets du déficit hydrique
Germination	16	Augmenté	Retardé
Développement	20-25	Augmenter la croissance précoce de la plante	Entrave à l'enracinement et à la pousse
Croissance des pousses	32	Augmenter la croissance végétative de la plante	Moins de tiges, limiter la croissance végétative de la plante, réduire la taille des feuilles et le nombre d'insectes.
Formation de stolons	25	Jusqu'à 25°C favoriser l'initiation des stolons	limite la croissance végétative des plantes, réduit la taille des feuilles et le couvert végétal
Formation de tubercules	15-22	Réduire l'induction et l'initiation des tubercules	Limitier l'initiation des stolons et réduire le nombre de stolons.
Grossissement des tubercules	14-22	Réduire le partage de la matière sèche et le remplissage des tubercules, augmenter la formation de tubercules secondaires avec une peau roussie et craquelée. Formation de tubercules secondaires à peau roussie et craquelée.	Restreindre l'initiation des tubercules et leur nombre de tubercules. Réduire la taille des tubercules, augmenter la formation de tubercules secondaires.
Rendement des tubercules	20-24	Réduire le rendement, la taille et la qualité des tubercules.	Réduire le rendement, la taille et la qualité des tubercules.

### 1.6.3 Le déficit hydrique

La pomme de terre est une culture hydrophile qui a besoin d'eau depuis la germination jusqu'à la tubérisation (Tableau 4). Elle est sensible à la sécheresse en raison de son système racinaire peu profond (Pino et al, 2013). Les paramètres physiologiques comme les taux de photosynthèse et de respiration et l'accumulation de glycoalcoïdes peuvent être affectés par le stress hydrique, y compris la réduction de la teneur en eau des tissus et l'inhibition de l'élongation cellulaire (Hassanpanah, 2009).



#### 1.6.4 La salinité

Fidalgo et al. (2004) ont signalé que le stress salin affectait négativement la teneur en eau relative, les stomates/conductance des feuilles et le taux de transpiration du cultivar *Désirée*. Les modifications de la structure du chloroplaste affectent vraisemblablement la photosynthèse, ce qui entraîne une augmentation de l'amidon dans les feuilles, une suppression de l'activité de la nitrate réductase et une réduction de la croissance et de la production de matière sèche dans les tubercules (Ghosh et al, 2001).

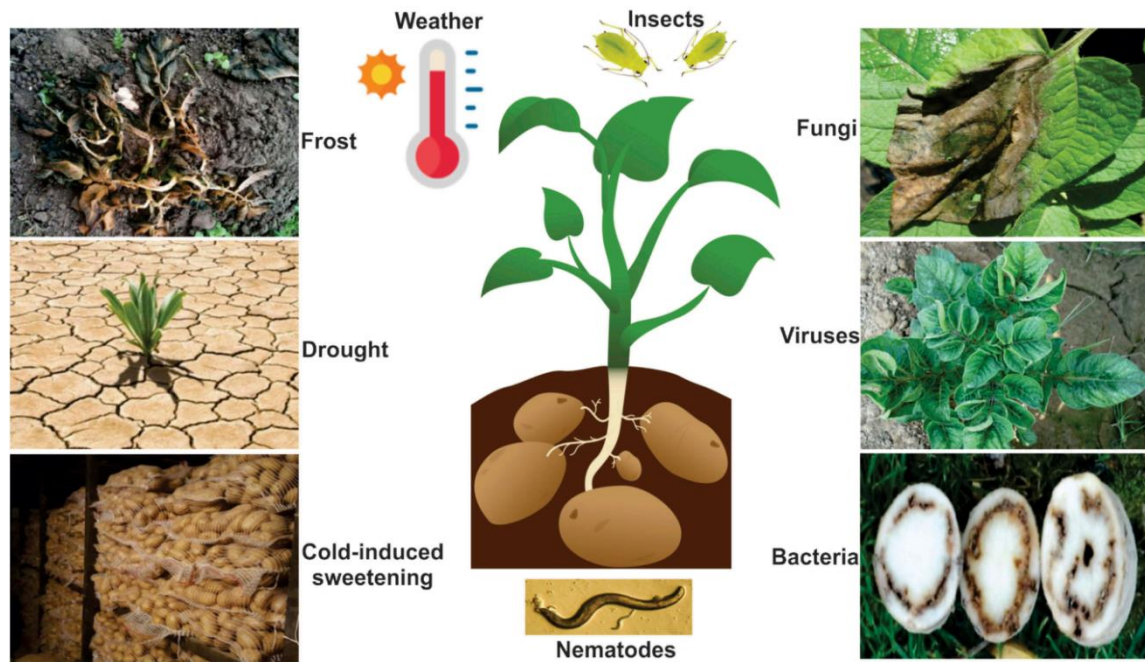
#### 1.7 Stress biotiques

L'étroite variabilité génétique facilite l'érosion génétique et la résistance à surmonter les pathogènes (Figure 6), puisque la plupart des pathogènes peuvent muter et acquérir une résistance (Brown, 1990; Goodwin et Drenth, 1997). Cette situation est bien illustrée par la famine irlandaise survenue à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle (1845-49) causée par une grave épidémie de mildiou (Zadoks, 2008). Actuellement, la pomme de terre est l'une des cultures les plus dépendantes des traitements chimiques, ce qui augmente les coûts et les effets négatifs sur l'agroécosystème et la chaîne alimentaire humaine (Bashir et al, 2021).

##### 1.7.1 Maladies bactériennes

Une fois qu'une maladie est disséminée dans les champs, elle peut persister pendant de longues périodes et se propager. Selon les conditions environnementales, les dommages peuvent être graves, et les producteurs sont obligés de quitter les zones infectées pour une période de quarantaine. (Jansky et Rouse, 2003).

- **Flétrissement bactérien ou pourriture brune (*Ralstonia solanacearum*)**. Elle infecte les racines à partir des lentilles et se propage dans le système vasculaire, provoquant un dysfonctionnement, un flétrissement et la mort de la plante (Genin et Denny, 2012). La manipulation de la ploïdie pour incorporer la résistance de *S. commersonii* dans *S. tuberosum* tétraploïde a donné des clones résistants (Laferriere et al, 1999; Carputo et al, 2009).



**Figure 6.** Représentation schématique de divers facteurs biotiques et abiotiques affectant la production de pommes de terre (Hameed et al, 2020).

Plusieurs facteurs biotiques tels que les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes, etc. influencent la croissance de la pomme de terre en provoquant diverses maladies des feuilles et des tubercules. Plusieurs facteurs abiotiques tels que la température, l'humidité, le gel, la texture du sol, l'humidité, etc. affectent également la culture de la pomme de terre. Le sucrage induit par le froid est un autre problème majeur qui affecte la qualité de la transformation des tubercules et qui est associé au stockage au froid des tubercules de pomme de terre

- **Pourriture annulaire bactérienne (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*).** Les tubercules sont infectés par les lenticelles (Li et al, 2018). Les symptômes sont le flétrissement, la chlorose internervaire et l'enroulement des feuilles (Whitworth et al, 2019). Des clones tétraploïdes résistants dérivés de rétrocroisements entre des hybrides somatiques de *S. acaule* et de *S. tuberosum* dihaploïde ont déjà été obtenus (Rokka et al, 2005).
- **La jambe noire (*Pectobacterium* spp.) et la pourriture molle du tubercule (*Dickeya* spp.).** Elles infectent les tubercules par les lenticelles (Pérombelon, 2002). Les clones résistants obtenus à partir d'hybrides somatiques entre *S. brevidense* et *S. tuberosum* dihaploïde, sont des alternatives pour la sélection des cultivars résistants à la pourriture molle (Bains et al, 1999).
- **La gale (*Streptomyces scabies*) et la gale poudreuse (*Spongospora subterranea*).** Ces maladies bactériennes gram-positives transmises par le sol affectent les tubercules (Braun et al, 2017). La résistance a été introgressée de *S. chacoense* dans des hybrides tétraploïdes avec *S. tuberosum* via une polyploïdisation sexuée unilatérale (Jansky et al, 2018).

- **La puce zébrée (*Candidatus Liberibacter solanacearum*)**. Cette maladie est causée par un agent gram négatif non cultivable, limité au phloème, transmis par le psylle ravageur *Bactericera cockerelli* qui se nourrit de phloème (Munyaneza, 2012; Charkowski et al, 2020; Mora et al, 2021). Une stratégie alternative consiste à se concentrer sur les hybrides somatiques de *S. tuberosum* X *S. berthaultii* (Butler et al, 2011; Levy et Tamborindéguy, 2014).

### 1.7.2 Maladies fongiques

Les champignons sont responsables d'importantes pertes de productivité, du semis à la post-récolte. Des cultivars résistants sont recommandés, mais toute utilisation prolongée des fongicides pourrait devenir inefficace en raison de la résistance acquise (Jansky et al, 2013).

- **la brûlure précoce (*Alternaria solani*)**. Il s'agit de l'un des agents de défoliation les plus graves. Les cultivars précoces sont moins affectés que les tardifs, mais tous les cultivars sont sensibles si aucune stratégie de lutte n'est adoptée (Dita et al, 2006). Certains hybrides entre *S. raphanifolium* et *S. tuberosum* haploïde ont montré un niveau élevé de résistance dans le champ (Weber, 2010; Rodriguez et al, 2007; Jansky et al, 2008).

- **la fusariose (*Fusarium spp.* en particulier le complexe *F. oxysporum*)**. Cette maladie peut limiter le rendement (Powelson et Rowe, 1993), causant des pertes de 15 à 70 % si aucun contrôle efficace n'est adopté (Kerkeni et al, 2013). Les sources potentielles de résistance sont *S. acaule*, *S. brevicaule*, et *S. kurtzianum* (Srivastava et al, 2016).

- **Le mildiou (*Phytophthora infestans*)**. C'est la principale maladie fongique affectant la pomme de terre. La fusion de protoplastes a permis d'introduire avec succès la résistance au mildiou de *S. tarnii* dans le cultivar "Delikat" (Thieme et al, 2008). La cisgénèse (processus de génie génétique) réalisée par *Agrobacterium tumefaciens* a permis de cloner de nombreux gènes R dans des cultivars d'élite, améliorant la résistance à large spectre (Tan et al, 2008; Haverkort et al, 2016).

- **La galle verruqueuse de la pomme de terre (*Synchytrium endobioticum*)**. Il s'agit d'un parasite oblique, qui infecte les tubercules et développe des galles. La lutte chimique n'est pas efficace et seules les mesures de quarantaine et phytosanitaires, ainsi que la culture de cultivars résistants, constituent des méthodes de prévention efficaces (Przetakiewicz, 2015).

### 1.7.3 Insectes nuisibles

Les insectes affectent le rendement et la qualité des tubercules, les pertes mondiales atteignant 10 à 16 %. Les dommages peuvent être directs, en se nourrissant des feuilles ou des tubercules, ou indirects par la transmission de virus (Alves et al, 2017).

- **Doryphore de la pomme de terre (*Leptinotarsa decemlineata*)**. Une résistance médiée par les trichomes a été signalée chez *S. berthaultii* et *S. polyadenium* (Bashir et al, 2021).
- **Le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) et le puceron de la pomme de terre (*Macrosiphum euphorbiae*)**. La fusion de protoplastes a transféré des gènes résistants de *S. bulbocastanum* à *S. tuberosum* (Davis et al, 2012).
- **Vers des tubercules ou mites des tubercules**. Les pertes de rendement se produisent pendant la post-récolte, causées par une perte de poids et de qualité des tubercules (Rondon, 2020).
- **La cicadelle de la pomme de terre (*Empoasca fabae*)**. Ce ravageur est un défoliateur sévère et réduit l'accumulation des réserves en affectant les feuilles (Radcliffe et Johnson, 1994).
- **La mineuse de la pomme de terre (*Liriomyza huidobrensis*)**. Ce ravageur très invasif provoque de graves dégâts sur les feuilles par *Alternaria solanii* (Soares et al, 2019).

### 1.7.4 Nématoïdes

Ce sont des ravageurs qui provoquent des troubles physiologiques, entraînant des pertes de rendement. La quarantaine est le seul traitement possible (Dandurand et al, 2019).

- **Nématodes à kyste de la pomme de terre (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*)**. La sélection de pommes de terre en utilisant des parents sauvages comme source de résistance au nématode à kyste est une option découverte chez *S. vernei* (Bashir et al, 2021).
- **Nématode à galles (*Meloidogyne chitwood*, *M. incognita*)**. Une résistance partielle a été introduite par la fusion de protoplastes (Austin et al, 1993; Brown et al, 2006).

### 1.7.5 Phytovirus

On rapporte qu'au moins 50 virus phytopathogènes provoquent des maladies chez la pomme de terre (Kreuze et al, 2020), réduisant le rendement jusqu'à 80 % (Kumar et al, 2019). La certification des semences est limitée par les tubercules virosés (Zeng et al, 2019). Les symptômes comprennent une mosaïque sur les feuilles, ainsi que la nécrose de la tige (Gray et al, 2010).

- **Potato spindle tuber viroid (PSTVd)**. Résistance trouvée chez *S. acaule*, *S. berthaultii* (Machida-Hirano, 2015).
- **Virus A de la pomme de terre (PVA)**. Résistance trouvée chez *S. chacoense*, *S. hougasii*, *S. maglia*, et *S. stoloniferum* (Bashir et al, 2021).
- **Virus de l'enroulement de la pomme de terre (PLRV)**. Résistance trouvée chez *S. acaule*, *S. acroscopum*, *S. andreanum*, *S. boliviense*, *S. brevicaule*, *S. brevidens*, *S. candolleianum*, *S.* (De Galarreta et al, 1998; Jansky, 2000; Machida-Hirano, 2015; Srivastava et al, 2016).
- **Virus M de la pomme de terre (PVM)**. Résistance trouvée chez *S. brevicaule*, *S. boliviense*, *S. brevidens*, *S. chomatophilum*, *S. infundibuliforme* (De Galarreta et al, 1998).
- **PVS (Potato virus S)**. Résistance trouvée chez *S. berthaultii*, *S. boliviense*, *S. brevicaule*, (De Galarreta et al, 1998).
- **Virus X de la pomme de terre (PVX)**. Résistance trouvée dans *S. acaule*, *S. ajanhuiri*, *S. albornozii* (Jansky, 2000; Zoteyeva et al, 2012; Machida-Hirano, 2015; Srivastava et al, 2016).
- **Virus Y de la pomme de terre (PVY)**. Résistance trouvée dans *S. acaule*, *S. acroscopicum*, (De Galarreta et al, 1998; Thieme et al, 2008; Chung et al, 2011; Machida-Hirano, 2015; Nouri-Ellouz et al, 2016; Srivastava et al, 2016).
- **Virus du cartilage du tabac (TRV)**. Résistance chez *S. paucissectum* (Bashir et al, 2021).

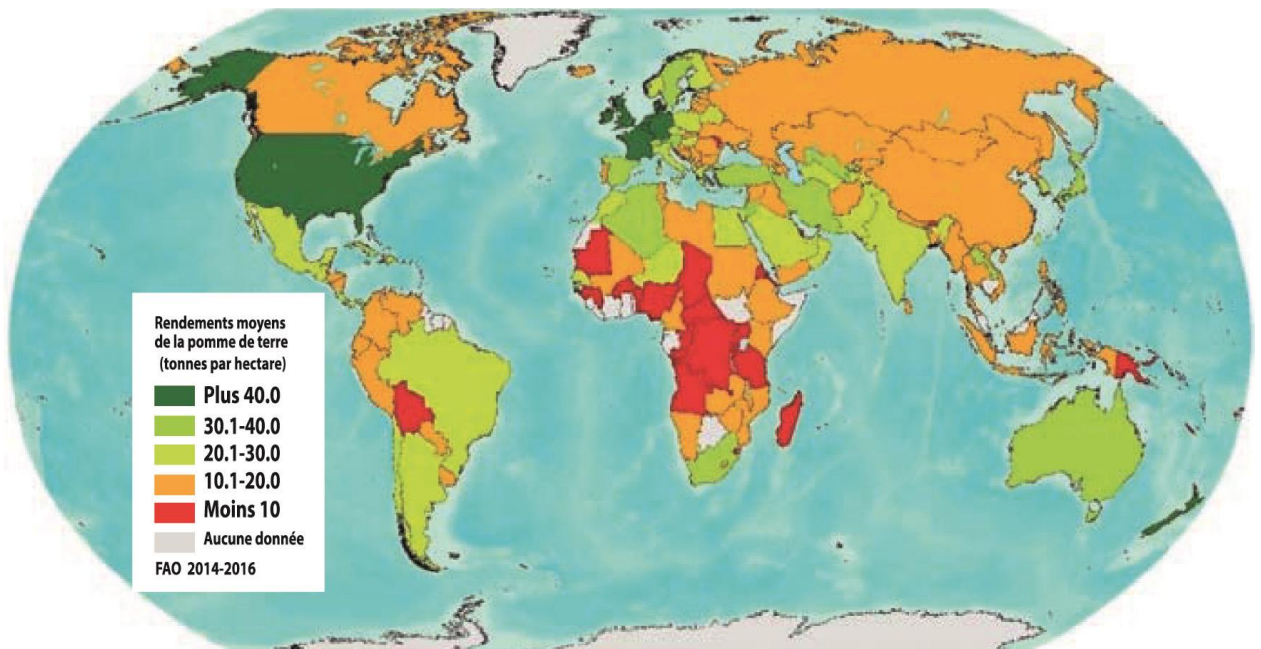
## 1.8 Importance économique de la pomme de terre

La pomme de terre, en raison de son adaptation et de sa capacité de rendement contribue depuis longtemps à soulager les insécurité alimentaire (Arun et al, 2015; Andrivon, 2017; Chung et al, 2016; Jennings et al, 2020; Jannat et al, 2021). Elle est actuellement cultivée sur environ 20 millions d'hectares de terres agricoles dans le monde, et la production mondiale de pommes de terre s'élève à 366 millions de tonnes (Devaux et al, 2020). Les cultures intensives se trouvent dans la zone tempérée de l'hémisphère nord, où la culture a lieu en été, pendant la période sans gel, où la production est à la fois une denrée de base et une culture de rente (Muthoni et al, 2010). Dans les régions subtropicales, la culture est pratiquée comme une culture d'hiver pendant la période sans chaleur, comme dans la région méditerranéenne.

Ce n'est que dans les basses terres tropicales que la pomme de terre n'est pas un aliment de base, parce que les températures dans ces régions sont trop élevées pour le développement et la croissance des tubercules des variétés de pommes de terre (Haverkort et al, 2013).

La consommation de pommes de terre fraîche représente environ deux tiers de la récolte et environ 1,3 milliard de personnes consomment des pommes de terre comme aliment de base (plus de 50 kg par personne et par an). La figure 7 montre la répartition mondiale des rendements de la pomme de terre. Les rendements réels vont de moins de 5 à 10 t de tubercules frais ha<sup>-1</sup> dans les zones rurales à bien plus de 40 à 100 t de tubercules frais ha<sup>-1</sup> dans les zones industrielles (Devaux et al, 2020). De nombreuses améliorations sont nécessaires en matière de pratiques agronomiques, de production de semences de qualité et de variétés tolérantes aux menaces abiotiques et biotiques (Birch et al, 2012).

Dans les pays à revenu élevé, les consommateurs recherchent principalement des aliments sains et faciles à préparer à un prix abordable, tandis que dans les pays en développement où les systèmes agroalimentaires ruraux sont courants, les besoins des consommateurs sont motivés par les défis alimentaires et nutritionnels liés à la sécurité et la stabilité des aliments (Devaux et al, 2021).



**Figure 7.** Distribution mondiale des rendements de la pomme de terre (Devaux et al, 2021).

## **2 Modes de propagation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.)**

### **2.1 Techniques classiques de multiplication de la pomme de terre**

La production de semences de pomme de terre dans un système conventionnel favorise l'accumulation de maladies et ne produit qu'environ 8 tubercules filles au cours d'une année (Otazu, 2008). Dans ce système, les producteurs sélectionnent les tubercules de meilleure qualité pour les semences et rejettent ceux de mauvaise qualité. Les plants malades et sains sont identifiés et séparés et les tubercules sains sont utilisés pour la production de la saison suivante. Si le plant de pomme de terre mère est infecté par une maladie pendant la saison de croissance, chacun des nouveaux tubercules filles est susceptible d'être infecté lui aussi. Cette méthode conventionnelle de propagation est l'une des techniques les plus lentes de multiplication des semences (Buckseth et al, 2016).

#### **2.1.1 Pré-germination des tubercules**

Knowles et Knowles (2006) proposent que les tubercules pré-germés à des températures élevées puissent entraîner une augmentation de l'âge physiologique des tubercules. Certains traitements de pré-germination de semence peuvent entraîner une augmentation significative des rendements grâce à une croissance plus rapide (Jannie, 2012). Bien que la semence soit placée dans des conditions environnementales appropriées pour sa croissance, les tubercules de pomme de terre ne germeront pas au stade de la récolte (Delaplace et al, 2008). Ainsi, la germination est rapide après un choc froid ou thermique pendant la période de stockage précoce (Imanparast, 2018).

#### **2.1.2 Sectionnement des plants**

La semence coupée est adoptée pour la réduction du coût des semences. Cependant, la surface coupée peut être sensible aux attaques des champignons du sol, en particulier pendant les conditions fraîches et humides. Kawakami et al. (2003) ont signalé que les tubercules entiers présentent certains avantages en termes de rendement par rapport aux morceaux de semences, même s'ils sont traités. Cependant, d'autres rapports ont montré que le rendement total de nombreux cultivars n'est pas sensiblement affecté par le nombre de germes (Nolte et al, 2003). L'utilisation de semences entières ou coupées pour maximiser le potentiel de rendement peut dépendre du cultivar et de l'environnement de production. C'est donc une pratique courante de couper les tubercules de semence en morceaux avec des variations dans

l'étendue et le type de coupe (Diop et al, 2019). Bien que des plants de pomme de terre puissent être élevés à partir d'un tubercule coupé en morceaux dont au moins un œil contient trois bourgeons et les morceaux de semences les plus grands donnent un rendement total plus important que les petits (Diop et al, 2019; Ibrahim, 2021).

## **2.2 Biotechnologie et amélioration de la production de la pomme de terre**

### **2.2.1 Micropropagation *in vitro* de la pomme de terre**

La première culture *in vitro* de la pomme de terre a été tenté dès 1951 (Naik et Buckseth, 2018), et depuis lors, une variété de tissus provenant de différents organes végétaux, tels que les feuilles, les pétioles, les segments d'entre-nœuds, les ovaires, les anthères, les tiges, les racines et les apex des bourgeons, ont été utilisés avec succès (Tableau 5) (Naik et al, 2001). Parmi toutes les avancées en matière de culture tissulaire, la culture de méristèmes et la micropropagation sont les technologies les plus prometteuses pour la production de semences de pomme de terre de qualité. La micropropagation désigne la production d'un grand nombre de plantes *in vitro* exemptes de pathogènes sur des milieux nutritifs définis, dans des conditions aseptiques, dans un temps et un espace limités. La micropropagation est actuellement à la base de nombreux systèmes de production de semences de pomme de terre et fournit spécifiquement le matériel de stock nucléaire sous forme de vitroplants ou de microtubercules pour leur utilisation ultérieure dans une chaîne de programmes scientifiques de production de semences de pomme de terre (Chindi et al, 2014).

### **2.2.2 Culture de méristèmes**

La culture de méristèmes est une procédure dans laquelle les extrémités apicales ou axillaires (0,1 à 0,3 mm) sont disséquées et transformées en plantules sur des milieux nutritifs dans des conditions contrôlées (Tableau 5) (Morel et Martin, 1952). Bien que ce procédé soit principalement utilisé pour l'élimination des virus (Millam et Sharma 2007), la régénération des plantes à partir de méristèmes prend 4 à 8 mois selon la taille du méristème et le génotype de la plante donneuse. En outre, selon la nature du virus, le pourcentage de plantes exemptes de virus obtenues à partir de méristèmes régénérés est variable (Naik et Karihaloo 2007). Spiegel et al. (1993) ont constaté que la culture de plantes à une température élevée (35-40°C) pendant des périodes variables élimine les virus de plusieurs espèces à multiplication végétative, car la répllication de nombreux phytovirus est considérablement réduite à des températures élevées (Naik et. Buckseth, 2018).



### 2.2.3 Embryogenèse somatique

L'embryogenèse somatique a fourni de nouvelles possibilités d'introduire de nouvelles sources de résistance aux maladies et aux ravageurs dans la pomme de terre cultivée à partir de taxons possédant des caractères de résistance (Tableau 5).

La résistance aux maladies causées par le virus de l'enroulement des feuilles, le virus Y de la pomme de terre, le mildiou précoce et tardif, la pourriture molle, le nématode à galles de Columbia et le doryphore de la pomme de terre ont été introduites par la fusion somatique de protoplastes de pomme de terre avec des protoplastes de parents sauvages, notamment *S. pinnatisectum* (Sarkar et al, 2011), *S. etuberosum* (Tiwari et al, 2010) et *S. cardiophyllum* (Chandel et al, 2015; Tiwari et al, 2018). Les hybrides somatiques ont été utilisés pour identifier de nouveaux gènes (Tiwari et al, 2015) par analyse du génome des organes (Tiwari et al, 2014). Cependant, bien que ces hybrides soient de bonnes sources de résistance aux pathogènes, ainsi qu'au stress abiotique, ils produisent souvent de petits tubercules difformes qui sont loin d'être adaptés à la production agricole. De multiples cycles de rétrocroisements sont nécessaires pour que ces plantes soient utiles en agriculture (Tiwari et al, 2020).

**Tableau 5.** Principales techniques d'amélioration *in vitro* de la pomme de terre (Gosal et Wan, 2018).

Matériel végétal	Remarques	Références
<b>Micropropagation</b>		
Pomme de terre <i>Solanum tuberosum</i> L.	Propagation <i>in vitro</i> par les microtubercules	Gopal et al. (1998a)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Un protocole pour la production de matériel de pomme de terre de pré-base par microboutures, obtenues à partir de plantes avec une courte période d'acclimatation.	Pereira et Fortes (2004)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Un protocole de micropropagation efficace	Ozturk et Yldrm (2006)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Utilisation de bioréacteurs continus et semi-continus et leurs fonctions dans la multiplication des pousses et la microtubérisation de la pomme de terre.	Ebadi et al. (2007)
Pomme de terre	La micropropagation a été réalisée avec succès en utilisant des segments nodaux comme plants.	Badoni et Chauhan (2009)
<b>Culture de méristème</b>		
Pomme de terre	Production de plantules exemptes de virus	Faccioli et Colombarini (1996)
Pomme de terre	Facteurs affectant la croissance <i>in vitro</i> des plantules dérivées de l'extrémité d'un palmier	Thind et al. (2005)
<b>Variation somaclonale</b>		
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Somaclones pour la tolérance à la chaleur	Das et al. (2000)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Les somaclones IBP-10, IBP-27 et IBP-30, infectés par <i>Alternaria solani</i> et <i>Streptomyces scabiei</i> , ont présenté une plus grande résistance à l'agent pathogène que le cultivar <i>Désirée</i> , qui y est sensible.	Veitia-Rodriguez et al. (2002)
Pomme de terre, tomate, soja, café	Le monomorphisme a été détecté dans la pomme de terre, le café et le soja, ce qui indique la stabilité génétique de ces cultures.	Lara et al. (2003)
<b>Culture de protoplastes et hybridation somatique</b>		
Pomme de terre ( <i>S. brevidens</i> x <i>S. tuberosum</i> )	Des hybrides somatiques ont été produits par électrofusion.	Fish et al. (1988)
Pomme de terre ( <i>S. brevidens</i> x <i>S. tuberosum</i> )	20 hybrides testés ont exprimé un haut niveau de résistance au PVY	Rokka et al. (1994)
Pomme de terre ( <i>Aminca Cardinal</i> x <i>Cardinal-Nicola</i> )	Une résistance complète au PVY a été notée pour une lignée hybride somatique (CN2). Tous les autres hybrides ont également montré une meilleure tolérance à l'infection par <i>Pythium aphanidermatum</i> pendant le stockage des tubercules ou après l'inoculation des plantes.	Nouri-Ellouz et al. (2006)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> x <i>Solanum tuberosum</i> )	Des somatichybrides intraspécifiques tétraploïdes entre 16 lignées diploïdes différentes de <i>Solanum tuberosum</i> L. ont été produits par fusion induite par PEG.	Przetakiewicz et al. (2007)
Pomme de terre	Résistance à la gale commune développée par des hybrides somatiques entre <i>Solanum brevidens</i> et <i>Solanum tuberosum</i> . <i>Solanum tuberosum</i> et la résistance à <i>Phytophthora infestans</i> à partir de <i>Solanum villosum</i>	Ahn et Park (2013), Tarwacka et al. (2013), Smyda et al. (2013), Tiwari et al. (2013)
<b>Cryopréservation et stockage <i>in vitro</i> du germoplasme</b>		
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Les extrémités des pousses de plants de pommes de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) cultivés <i>in vitro</i> ont été cryoconservées par une méthode de vitrification modifiée. méthode de vitrification	Halmagyi et al. (2004)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Les plantes <i>in vitro</i> de pomme de terre ont été climatisées à froid, cryoconservées et régénérées dans le milieu de régénération.	Zhao et al. (2005)
Pomme de terre ( <i>Solanum tuberosum</i> L.)	Le protocole a été testé avec 12 variétés cultivées et espèces sauvages sélectionnées, et les pourcentages de survie obtenus varient entre 64,0 et 94,4 %.	Yoon-Ju et al. (2007)

### 2.3 Autres voies d'amélioration de la production de la pomme de terre

Les techniques moléculaires ont été largement adoptées comme outils puissants pour la caractérisation du matériel génétique, l'identification des cultivars, les études phylogénétiques et l'analyse de la diversité de nombreuses plantes cultivées (Yang et al, 2015). Dans l'étude de la pomme de terre, l'ADN polymorphe amplifié aléatoire (RAPD) (Sabina et al, 2006; Hoque, 2013), le polymorphisme amplifié inter-rétrotransposons (IRAP) (Novakova et al, 2009), les répétitions de séquences inter-simples (ISSR) (Mahgouh et al, 2015), le polymorphisme de longueur de fragment amplifié (AFLP) (Zhao et al, 2013 ) et les répétitions de séquences simples (SSR) (Zhao et al, 2013; Yang et al, 2015) ont été utilisés pour l'estimation de la diversité génétique. Parmi les marqueurs d'ADN, les SSR ont été utilisés avec succès dans des espèces polyploïdes telles que les espèces de pommes de terre (Duan et al, 2019). Les marqueurs SSR ont été largement utilisés dans la détermination de la diversité génétique, l'empreinte du matériel génétique, l'analyse de l'hétérosis, le suivi des migrations, le flux génétique, la cartographie de liaison génétique et les études phylogénétiques. (Lee et al, 2021). Ainsi, les nouvelles technologies d'amélioration telles que CRISPR/Cas9 (clustered palindromiques régulièrement espacées/CRISPR-associé 9), TALENs (nucléases effectrices semblables à des activateurs de transcription), et ZFNs (nucléases à doigts de zinc) offrent un grand potentiel pour accélérer l'édition du génome d'une manière plus précise et rapide (Mahfouz et al, 2016; Schiml et Puchta, 2017; Hameed et al, 2018). L'édition du génome a été appliquée avec succès à la pomme de terre diploïde pour surmonter le SI gamétophytique en éliminant le gène de la ribonucléase Styler (S-RNase), ce qui permet d'améliorer divers traits agronomiques tels que la résistance aux maladies (Ye et al, 2018).

### 2.4 Microtubérisation

La production de pommes de terre de semence par micropropagation est principalement basée sur la production de plantules *in vitro* exemptes de pathogènes, puis de microtubercules et/ou de microtubercules (Ranalli, 1997). Les microtubercules sont des tubercules miniatures et diffèrent des microtubercules en ce qu'ils sont plus petits et sont produits dans des conditions aseptiques *in vitro*. L'induction de la microtubérisation chez la pomme de terre est fortement liée aux conditions abiotiques (Naik et Karihaloo, 2007). La source de carbone spécifique et sa concentration dans le milieu de culture des tissus ont une grande importance, le saccharose étant le substrat préféré, en grande partie à cause de sa translocation vers les microtubercules en développement (Khuri et Moorby 1995). La concentration optimale de

saccharose pour la production de microtubercules varie de 60 à 80g/l, ce qui représente jusqu'à deux ou trois fois la quantité normale utilisée pour la micropropagation (Khuri et Moorby, 1995; Momena et al, 2014).

#### **2.4.1 Les facteurs influençant la microtubérisation**

Le phénomène de tubérisation chez la pomme de terre est un processus de développement complexe qui est contrôlé par plusieurs facteurs environnementaux et cellulaires (Pundir et al, 2021). Les facteurs importants pour la croissance *in vitro* et la production de microtubercules sont l'utilisation du génotype, les composants du milieu tels que la source d'hydrates de carbone et les régulateurs de croissance (Hossain et al, 2017a; Ali et al, 2018; Teng et al, 2019; Astarini et al, 2021).

##### **2.4.1.1 Génotype**

La microtubérisation est une méthode avantageuse pour les études physiologiques et la sélection du germoplasme de pomme de terre et aussi une source importante d'explants pour évaluer les plants de pomme de terre pour la tolérance au stress (Uranbey et al, 2017). Le nombre de microtubercules par plante dépend de génotype de la pomme de terre. Gopal et al. (1998b) ont évalué 22 génotypes et ont confirmé, pour la plupart, la formation de microtubercules dans des conditions de photopériode courte de 10 h et de basse température ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$  le jour et  $18 \pm 2^\circ\text{C}$  la nuit). Les cultivars modernes de pomme de terre ont évolué pour tubériser dans des conditions de jours courts et de jours longs après une adaptation à long terme, mais la différenciation des tubercules est toujours accélérée par des jours plus courts dans tous les génotypes de pomme de terre (Ai et al, 2021) d'où l'importance de développer des protocoles spécifiques pour chaque génotype pour une production optimale de microtubercules, car chaque génotype réagit différemment aux milieux (Astarini et al, 2021).

##### **2.4.1.2 Type d'explant**

Différents explants tels que des segments nodaux avec un nombre variable de nœuds, des vitroplants entière ou des microtubercules sont suggérés par différents auteurs (Leclerc et al. 1994; Khuri et Moorby, 1996; Fatima et al, 2005; Dobranszki et al, 2008). Fatima et al. (2005) ont montré l'importance du type d'explant sur la formation des microtubercules. L'explant nodal a été considéré comme déclenchant la formation la plus élevée de microtubercules ainsi qu'une amélioration des caractéristiques des vitroplants par rapport aux

autres types d'explants. Hoque (2010) a également montré que le segment nodal permet la formation de microtubercules dans une période plus courte avec un poids de microtubercules plus élevé. L'utilisation de vitroplant entier par rapport à ses parties comme explant a également augmenté le taux de formation et la taille des microtubercules (Yagiz et al, 2020).

### **2.4.1.3 Type de milieux**

Le type de milieu est également important pour l'efficacité de la microtubérisation (Kumlay, 2014; Yagiz et al, 2020). Les milieux liquides ont été rapportés comme ayant un effet significatif sur la croissance des plantes et la production efficace de microtubercules *in vitro* (Dhital et Lim, 2012). Les milieux solides ont été largement utilisés dans de nombreuses études (Hossain et al, 2017a; Borna et al, 2019). Les agents solidifiants couramment utilisés sont l'agar, le Difco Bacto-agar et le phytigel (Arregui et al, 2003; Hussien et al, 2014).

Le phytigel est produit à partir d'un substrat bactérien composé de rhamnose, de glucose et d'acide glucuronique (Jacques et al, 2020). Arregui et al. (2003) ont rapporté que le phytigel peut favoriser une tubérisation plus rapide et des microtubercules plus gros par rapport au milieu contenant du Difco Bacto-agar. La microtubérisation dans des milieux liquides a produit des microtubercules plus gros (Leclerc et al, 1994). Les bioréacteurs à immersion temporaire ont été utilisés pour produire efficacement des microtubercules de pomme de terre (Kämäräinen-Karppinen et al, 2010; Tapia et al, 2018). Plusieurs études sur la sélection des milieux pour l'induction de microtubercules *in vitro* chez la pomme de terre indiquent qu'un pourcentage plus élevé de saccharose donnait des résultats satisfaisants (Hossain et al, 2017a; Pantelic et al, 2018 ; Guedes et al, 2019).

### **2.4.1.4 Saccharose**

Le facteur le plus critique pour le développement des tubercules chez les plantes de pomme de terre est attribué au saccharose (Donnelly et al, 2003). Il a été démontré que le saccharose est essentiel pour son effet osmotique (Khuri et Moorby, 1995), en tant que source d'énergie et, à un niveau plus élevé, en tant que molécule de signalisation (Donnelly et al, 2003). Dans le développement des microtubercules, les taux de croissance dépendent de la disponibilité de saccharose en utilisant des sucres radiomarqués (Khuri et Moorby, 1995).

Ces auteurs ont démontré que plus de sucre est transloqué vers les microtubercules lorsque le saccharose, plutôt que le glucose ou le fructose, est la source de carbone. Ils ont conclu que le saccharose agit principalement comme une source de carbone appropriée pour l'absorption et

l'utilisation par les plantules, mais, à 8%, il fournit également une osmolarité favorable au développement des microtubercules. Le taux de croissance des microtubercules dépend de la disponibilité du saccharose, puisque l'hydrolyse du saccharose en glucose et en fructose le limite (Yu et al, 2000). Le saccharose favorise le développement des tubercules, bien qu'il soit peu probable que le saccharose elle-même soit le stimulus qui induit les tubercules (Herrera-Isidron et al, 2021; Nicolas et al, 2021).

#### **2.4.1.5 Température**

Dans des conditions *in vitro*, la température peut affecter la production de microtubercules (Wang et Hu, 1982; Akita et Takayama, 1994). Bien que la croissance des plantules propagées soit optimale à 20-25°C, la formation de microtubercules est souvent meilleure à des températures légèrement plus basses. Selon Wang et Hu (1982), le nombre moyen de microtubercules est plus faible à une température *in vitro* plus élevée (28-28°C jour/nuit) qu'à une température plus basse (20-20°C jour/nuit).

La température optimale pour la microtubérisation a été suggérée comme étant de 20°C (Wang et Hu, 1982) ou entre 15 et 18°C (Akita et Takayama, 1994). Des résultats similaires ont été obtenus par Otroshy et al. (2009) dans leur essai avec des températures allant de 17 à 25°C. Singh et al. (2016) ont également signalé que la température élevée augmente la biomasse totale dans leur étude de microtubérisation. Dans deux essais en bioréacteur, la biomasse totale à 30°C pour tous les clones était significativement plus élevée que celle de 16°C (Gautam et al, 2021).

#### **2.4.1.6 Photopériode**

La photopériode joue un rôle important dans la domestication de traits agricoles et l'adaptation des cultures à diverses conditions de longueur de jour (Zhou et al, 2019). La lumière régule la croissance et le développement des plantes, et elle influence directement la photosynthèse des plantes, ce qui entraîne une augmentation des glucides et de la biomasse totale (Mills et Jones, 1996). L'ensemble du processus de développement des plantes est contrôlé par la qualité, la quantité et la photopériode de la lumière.

Les plantes possèdent des capteurs spécifiques (photorécepteurs) permettant une détection précise des caractéristiques de la lumière : composition spectrale, intensité et durée. Ces photorécepteurs traduisent l'énergie lumineuse en signaux biologiques et peuvent activer des

voies en aval pour réguler la croissance, la morphogenèse, la photosynthèse, le métabolisme, le développement et le comportement des plantes (Grishchenko et al, 2021).

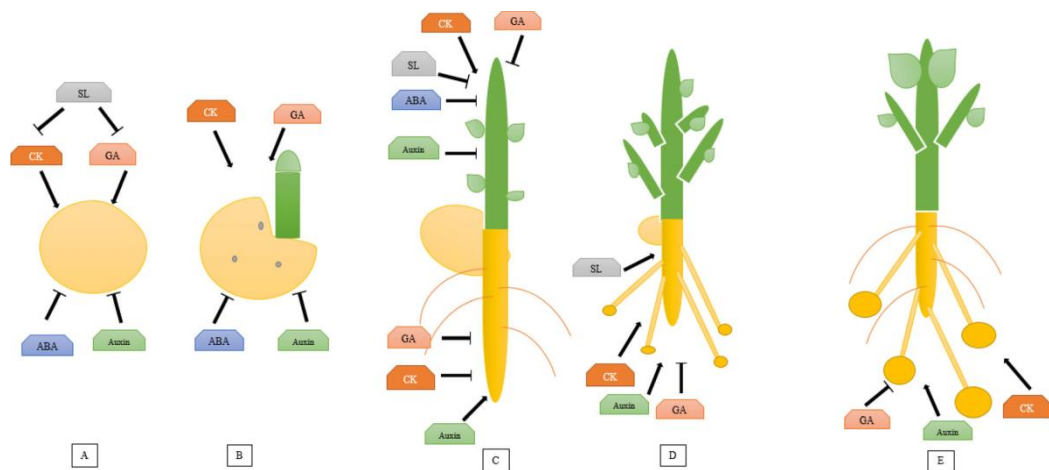
La lumière joue également un rôle important dans l'altération des nutriments et de la qualité des graines en germination (Islam et al, 2017; Rahman et al, 2021). De nombreux progrès ont été réalisés dans la compréhension du mécanisme moléculaire qui contrôle la tubérisation par la longueur du jour chez la pomme de terre, et plusieurs éléments clés sont partagés par le contrôle photopériodique de la floraison et la tubérisation (Rodriguez-Falcon et al, 2006; Dutt et al, 2017). En bref, la longueur du jour est perçue par le photorécepteur dans les feuilles, puis le signal est transporté vers les stolons souterrains pour induire l'initiation du tubercule (Rodriguez-Falcon et al, 2006; Ai et al, 2021).

#### **2.4.2 Phytorégulateurs de croissances**

Aujourd'hui, on distingue cinq grandes classes de phytorégulateurs de croissance (PGRs): (i) les auxines, (ii) les cytokinines, (iii) les gibbérellines, (iv) l'acide abscissique et (v) l'éthylène. Outre ces phytohormones classiques, d'autres PRG tels que les polyamines, l'acide salicylique, les jasmonates, les stérols, les brassinostéroïdes, les strigolactones, les oligosaccharines, les systémines, et le florigène ont été découverts plus récemment (Soumare et al, 2021). Le développement du tubercule est contrôlé par les hormones GA<sub>3</sub>, cytokinines (CK) et auxines. La croissance du tubercule est le moment où un stolon commence à se distinguer et à gonfler, pour produire le tubercule (Katsarou et al, 2016).

Lors de l'initiation de la tubérisation sur un stolon longitudinal, il est bien établi que la division et l'expansion cellulaire sont toutes deux nécessaires à la croissance et au développement du tubercule (Chakraborty et al, 2018; Saidi et Hajibarat, 2019). Les tubercules sont considérés comme un puits majeur pour les hydrates de carbone et un stockage de nutriments inorganiques (Morris et Taylor, 2010). Une étude a révélé que plus la surface foliaire est élevée, plus la croissance des tubercules est importante (Saidi et Hajibarat, 2021). D'autres études ont également mis en évidence que les phytohormones agissent comme des commutateurs chimiques, à savoir GA<sub>3</sub> comme inhibiteur CK et auxine comme promoteurs du développement des tubercules chez la pomme de terre (Tao et al, 2010; Eviatar-Ribak et al, 2013).

Pendant la croissance de la tige et l'initiation du tubercule, les  $AG_3$  stimulent l'élongation et l'expansion des cellules dans les stolons (Aksenova et al, 2014). Cependant, les  $AG_3$  jouent un rôle inhibiteur dans la croissance et le développement des tubercules. L'analyse de la teneur en  $GA_3$  endogène a révélé qu'après le développement du tubercule, les niveaux de  $GA_3$  dans les extrémités des stolons gonflants sont réduits (Brenner et al, 2005). Outre l' $AG_3$ , les CKs jouent un rôle important dans la formation des tubercules, à savoir l'initiation, la formation et l'élargissement des tubercules (Saidi et Hajibarat, 2021). De plus, les CKs sont impliquées dans la prolifération cellulaire dans les premiers stades de la croissance du tubercule (Figure 8) (Katsarou et al, 2016). L'application exogène de CK a entraîné un développement accru des tubercules (Saidi et Hajibarat, 2021). L'auxine, comme la CK, est impliquée dans le processus d'expansion et d'agrandissement des cellules. L'auxine influence le poids de la plante entière mais stimule la tubérisation, y compris le nombre et le poids des tubercules (Roumeliotis et al, 2012). Des études expérimentales ont indiqué que la teneur et la dynamique de l'auxine dans le plant de pomme de terre peuvent influencer l'initiation, la croissance et le développement des tubercules (Aksenova et al, 2014). Sergeeva et al. (1994) ont déduit que le mouvement de l'AIA de la pousse vers la racine et le stolon est important pour la tubérisation.



**Figure 8.** Plusieurs régulateurs clés sont impliqués pendant le développement du tubercule, constituant un réseau complexe (Saidi et Hajibarat, 2021).

**A :** ABA, auxine, SL (Strigolactone) maintiennent la dormance des tubercules.  $GA_3$  et CK stimulent la germination des tubercules. **B :** ABA et auxine sont des inhibiteurs de la germination des tubercules tandis que CK et  $GA_3$  sont des accélérateurs de la germination. **C :** L'auxine agit comme un stimulateur et  $GA_3$  et CK comme un suppresseur de la formation des racines. CK augmente la croissance des ramifications des pousses et la croissance des bourgeons, alors que l'ABA (Acide abscissique), auxine,  $GA_3$  et SL sont des suppresseurs du développement des pousses. **D :** Au stade de l'initiation du tubercule,  $GA_3$  agit comme un inhibiteur, alors que l'auxine, CK et SL stimulent la tubérisation. **E :** Au stade du développement du tubercule,  $GA_3$  a un rôle inhibiteur, alors que l'auxine et CK favorisent le développement du tubercule.



## 2.5 Stockage, conservation *in vitro* et cryoconservation

**La conservation *ex situ*** s'agit d'une méthode simple de préservation de la diversité biologique. La pomme de terre est conservée sous forme de tubercules où ils sont soumis à un stockage au froid (4-8°C) après la récolte pour réduire la germination, la pourriture, le déficit hydrique et pour prolonger la durée de conservation. Cependant, ce stockage au froid entraîne une augmentation systémique des concentrations de saccharose (Bhaskar et al, 2010; Hameed et al, 2020). Le matériel peut être exposé aux agents pathogènes où il y a souvent un risque de perte de germoplasme (Bekheet et al, 2020). Par conséquent, les chercheurs sont à la recherche de méthodes de conservation complémentaires (Roque-Borda, 2021).

**La conservation *in vitro*** ou les banques de gènes s'occupent de la conservation des ressources phylogénétiques (Cadima Fuentes et al, 2017). La conservation des espèces de pommes de terre cultivées et de leurs parents sauvages dans des banques de gènes assure la disponibilité à long terme de la diversité génétique (Berdugo-Cely et al, 2017). La caractérisation de ces collections est essentielle pour identifier les caractères d'intérêt pour la sélection végétale, tels que la résistance aux agents pathogènes et la tolérance aux stress abiotiques (Hirsch et al, 2013; Lee et al, 2021).

**La cryoconservation** consiste à utiliser des températures ultra-basses (-135 °C à -196°C) d'azote liquide (LN), ce qui permet aux cellules de conserver leur viabilité et leur stabilité génétique (Tableau 6) (Agrawal et al, 2019; Acosta et al, 2020). Les chercheurs de la cryoconservation de la pomme de terre ont publié leurs premiers protocoles il y a environ 35-40 ans (Vollmer et al, 2017). Récemment, ils ont publié d'autres méthodes prometteuses pour la cryoconservation, telles que le cryoplate D et V. Dans ces méthodes, les apex des germes sont soumis à un processus de cryoconservation (Yamamoto et al, 2015; Valle et al, 2017).

**Tableau 6.** Synthèse des étapes de la cryoconservation des plantes (Roque-Borda et al, 2021).

<b>Méthodes de cryoconservation</b>	
<b>Méthodes classiques (refroidissement lent)</b>	<b>Méthodes modernes (refroidissement rapide)</b>
Mise en place d'une culture <i>in vitro</i> ou désinfection de tissus et d'organes prélevés directement sur la plante donneuse	
Préculture des explants sur un milieu à pression osmotique accrue et durcissement à froid facultatif des explants.	
Traitement avec un cryoprotecteur approprié, généralement du DMSO (la concentration et la durée du traitement varient en fonction du matériel végétal).	Déshydratation avec un mélange de dilution puis des cryoprotecteurs concentrés (après une encapsulation facultative des explants dans de l'alginate) ou déshydratation dans une série de solutions de saccharose (à concentration croissante), suivie d'un séchage à l'air libre
Refroidissement progressif et lent à un certain taux de refroidissement ( $0,2-2\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ), qui peut être réalisé par des cryostats disponibles dans le commerce. Ce refroidissement est périodique jusqu'à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ et, enfin, $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ et à des intervalles définis	Refroidissement rapide par immersion directe des explants dans le LN
Stockage des spécimens en flacons ou en paillettes dans des 'cryoboxes' dans le LN ou, plus rarement, dans sa phase vapeur.	
Réchauffement des échantillons (rapide dans un bain-marie ou à température ambiante)	
Élimination du cryoprotecteur par lavage avec une solution à forte concentration de saccharose (généralement 1,2 M)	
Détermination de la viabilité (par histochimie ou par observation de la croissance)	
Récupération <i>in vitro</i> de plantes sur un milieu enrichi en PGR (généralement dans des conditions de lumière réduite pendant les deux premières semaines de culture).	
Acclimatation et transfert en conditions <i>ex vitro</i>	

*Matériels &  
Méthodes*

## Chapitre II. Matériels et méthodes

### 1 Matériel végétal

#### 1.1 Provenance du matériel végétal

Les cultivars de *Solanum tuberosum* L. *Désirée* et *Spunta* ont été obtenus de la ferme pilote de Si Abdelkrim à Tiaret. Ces deux variétés de pomme de terre dominantes sont des cultivars commerciaux les plus cultivés en Algérie.

#### 1.2 Caractères descriptifs des variétés utilisées

Les deux cultivars utilisés (*Désirée* et *Spunta*) ont des caractéristiques botaniques et agronomiques souhaitables. Ils ont été sélectionnés pour leur rendement optimal, leur résistance aux maladies et leur adaptation aux conditions agro-climatiques (Tableau 7).

**Tableau 7.** Caractéristiques de deux variétés de pommes de terre (ECPD, 2021).

Variété	<i>Désirée</i>	<i>Spunta</i>
<b>Origine</b>	Urgenta X Depesche	Béa X USDA.96-56
<b>Année d'obtention</b>	1971 Pays-Bas	1967 Pays-Bas
<b>Catégorie</b>	Consommation	Consommation
<b>Rendement</b>	104 % du témoin de Bintje.	111 % du témoin de Bintje.
<b>Tubercule</b>	Oblong, assez régulier, yeux superficiels, peau rouge, chair jaune.	Oblong allongé, régulier, yeux très superficiels, peau jaune, chair jaune.
<b>Germe</b>	Rouge violacé, en forme de tonneau, pilosité moyenne.	Violet, conique, pilosité moyenne.
<b>Plante</b>	Taille haute, port dressé, type semi-rameux.	Taille haute, port dressé, type rameux.
<b>Tige</b>	Entrenœuds fortement pigmentés, nœuds moyennement pigmentés, aux ailes étroites, rectilignes.	Entrenœuds faiblement pigmentés, nœuds non pigmentés, aux ailes développées, rectilignes et ondulées.
<b>Feuille</b>	Vert franc, peu divisée, ouverte ; foliole moyenne, ovale (I = 1,73) ; limbe plan.	Vert franc, peu divisée, mi-ouverte ; foliole moyenne, ovale arrondi (I = 1,61) ; limbe cloqué.
<b>Floraison</b>	Abondante.	Assez abondante.
<b>Fleur</b>	Rouge violacé, grande pointes blanches, bouton floral partiellement pigmenté.	Blanche, bouton floral partiellement pigmenté.
<b>Fructification</b>	Assez fréquente.	Très rare.
<b>Maturité</b>	Moyenne à demi-tardive.	Demi-précoce
<b>Sensibilité à l'égermage</b>	Peu sensible.	Assez sensible.
<b>Repos végétatif</b>	Très long.	Moyen.
<b>Teneur en matière sèche</b>	Assez élevée.	Très faible.
<b>Aptitude à la conservation</b>	Bonne.	Assez faible.

### 1.3 Type d'explants utilisés

L'étude a été menée en quatre étapes :

- Le développement des germes du tubercule de deux cultivars de *S. tuberosum in vivo*, la culture *in vitro* des extrémités des germes, la micropropagation et la microtubérisation. Pour l'établissement des cultures, trois types d'explants ont été évalués pour induire:
- La micropropagation: l'explant utilisé est formé de l'apex des germes pour l'obtention d'un nombre suffisant des vitroplants ;
- La microtubérisation: l'explant utilisé est composé de microboutures de segments nodaux des vitroplants issus de subcultures.
- La conservation des microtubercules au froid et dans l'azote liquide à -196°C.

## 2 Méthodes expérimentales

### 2.1 Préparation du matériel végétal

Dans notre étude, nous avons utilisé des tubercules sains, ne présentant aucun signe maladif. Ces tubercules non-traités ont été entreposés dans des conditions de température ambiante de 20-25 °C et de lumière naturelle avec 80% d'humidité pour rompre la dormance et permettre leur germination (Jannie, 2012; Carrera et al, 2015; Borna et al, 2019).

L'objectif de la pré-germination est la formation de pousses, colorées et fermes, avec une base de racines (Figure 9). Après la germination des tubercules, les extrémités des germes sont coupées à 2 cm pour maintenir l'homogénéité des explants (Sarkar et al, 2006), et ensuite utilisées comme explants primaires pour l'établissement de cultures *in vitro*.



**Figure 9.** Germination de semence des cultivars (A): *Désirée* (cv.Dr), (B): *Spunta* (cv.Sp).

## 2.2 Stérilisation des explants

Les bourgeons collectés ont été excisés pour la stérilisation aseptique. Ces apex des bourgeons sont soigneusement lavés sous un courant d'eau du robinet puis traités avec quelques gouttes de Tween-20 et 1 g l<sup>-1</sup> de mancozèbe (antifongique) pendant une minute en agitant constamment, suivis de trois rinçages successifs dans l'eau distillée. Les bourgeons sont ensuite désinfectés pendant une minute avec l'éthanol à 70%, puis 10 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium (NaOCl 2% de chlore), suivi de 3 rinçages successifs dans l'eau distillée stérile sous hotte à flux laminaire.

## 2.3 Composition minérale des milieux de culture utilisés

Tous les milieux de culture utilisés contiennent les macroéléments, les microéléments, la solution ferrique de Murashige et Skoog (1962) et les vitamines de Morel (Morel et Wetmore, 1951) (Tableau 8). Ces milieux sont complétés par des additifs requis selon l'objectif dans chaque expérience. Après ajustement du pH à  $5,7 \pm 1$  avec du NaOH (1 N) ou HCl (1 N), les milieux de culture sont ensuite autoclavés à 121 °C (1,1 kg/cm<sup>2</sup> de pression) pendant 20 minutes.

**Tableau 8.** Composition du milieu de culture MS (Murashige et Skoog, 1962) et les vitamines de Morel (Morel et Wetmore, 1951).

<b>Macroéléments</b>	<b>mg.l<sup>-1</sup></b>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
KNO <sub>3</sub>	1900
<b>Microéléments</b>	<b>mg.l<sup>-1</sup></b>
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	22,3
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	8,60
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,20
KI	0,83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,025
<b>Source de fer</b>	<b>mg.l<sup>-1</sup></b>
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	37,3
<b>Vitamines de Morel</b>	<b>mg.l<sup>-1</sup></b>
Biotine	0,01
Pantothénate de calcium	1
Acide nicotinique	1
Pyridoxine-HCl	1
Thiamine-HCl	1
Myo-inositol	100

## 2.4 Mise en culture

### 2.4.1 Micropropagation

La mise en culture des explants stérilisés est réalisée sur le milieu de base MS (Murashige et Skoog, 1962) contenant les vitamines décrites par Morel et Wetmore (1951), 30 g l<sup>-1</sup> de saccharose et solidifié avec 7 g l<sup>-1</sup> d'agar (DifcoBacto-Agar). Une seule extrémité de germe inoculée par tube de culture (20 x 200 mm) contenant 15 ml de milieu. Les apex qui se sont développées dans ce protocole de multiplication de 4 à 6 semaines ont donné naissance à des vitroplants sains qui ont fourni le nombre souhaité d'explants pour la production des microtubercules dans les traitements ultérieurs. Le taux de la régénération a été calculé comme suit :

$$\text{Taux de régénération} = \frac{\text{nombre d'explants régénérés}}{\text{nombre total d'explants mis en culture}} \times 100.$$

## 2.4.2 Microtubérisation

Après l'assainissement de la multiplication *in vitro*, des vitroplants de pomme de terre ont été obtenus. Des explants de segments à un seul nœud prélevés des plantules obtenues ont été utilisés pour la microtubérisation. Dix segments uninodaux ( $\approx 2$  cm) ont été cultivés par bocal en verre (145 x 75mm : hauteur/diamètre), contenant 50 ml de milieu de culture de base MS enrichi de  $80 \text{ g l}^{-1}$  de saccharose (Lo et al, 1972; Mani et al, 2014; Hossain et al, 2017a). L'expérience a été dirigée par trois répliques ( $n=30$  explants) par traitement et par cultivar. Tous les bocaux de culture ont été placés dans les conditions de culture de propagation pour assurer la croissance des vitroplants pendant quatre semaines, suivi de huit semaines d'induction et de développement des microtubercules. La durée totale de l'expérience a été menée sur 12 semaines de culture.

## 2.5 Conditions de culture

Les cultures *in vitro* sont placées dans les conditions contrôlées suivantes :

- Les cultures de micropropagation sont incubées à une température de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  et une photopériode de 16 h par cycle de 24 heures. La lumière était fournie par des tubes fluorescents blanc froid à une intensité de  $90 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .
- L'induction des microtubercules est effectué en soumettant les cultures à une photothermopériodique courte et alternée :  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  par 8 h de jour et  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  par 16 h de nuit (Belguendouz, 2012; Li et al, 2020; Oves, 2021) jusqu'au développement des microtubercules.

## 2.6 Production de microtubercules

### 2.6.1 Effet de la concentration en agar-agar

Afin d'évaluer les effets du milieu de culture sur l'induction de microtubercules, des segments nodaux uniformes issus de vitroplants cultivés pendant 4 semaines, ont été utilisés comme explants. Le milieu de production des microtubercules était établi sur les critères de microtubérisation susmentionnées et le milieu basal de MS (Murashige et Skoog, 1962) complété par des concentrations variables d'agar ( $0 \text{ g l}^{-1}$ : milieu liquide,  $4 \text{ g l}^{-1}$ : milieu semi-solide et  $8 \text{ g l}^{-1}$ : milieu solide). Le type de milieu de culture qui enregistre une meilleure microtubérisation sera adopté pour effectuer les autres traitements.



### 2.6.2 Effet du charbon actif (CA)

Dans le but d'évaluer l'effet du charbon actif sur la production de microtubercules, différentes concentrations de cet adsorbant (0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 et 10 g l<sup>-1</sup>) ont été incorporées dans le milieu de base de MS (Murashige et Skoog, 1962) enrichi de saccharose à 8%.

Le même protocole expérimental et les mêmes conditions de culture utilisés précédemment pour induire la microtubérisation ont été appliqués.

### 2.6.3 Effet des régulateurs de croissance

Afin d'optimiser les régulateurs de croissance (PGRs) pour la microtubérisation chez la pomme de terre, l'effet de différentes concentrations et combinaisons de PGR ont été évalués. Les traitements de PGRs testés sont des cytokinines, à savoir : TDZ (0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 et 1 mg l<sup>-1</sup>), *mT* (0 ; 0,5 ; 1 ; 2 et 4 mg l<sup>-1</sup>) et BAP (0 ; 1 ; 2 et 4 mg l<sup>-1</sup>). Les cultures ont été maintenues dans les conditions de culture citées ci-dessus dans les expériences de production des microtubercules. Les régulateurs de croissance sont dissous préalablement dans quelques gouttes d'éthanol, de NaOH (1N) ou de KOH (1N), respectivement avant leur dilution dans de l'eau distillée (Tableau 9).

**Tableau 9.** Solvants, conditions de stockage et stérilisation des régulateurs de croissances testés (Benmahioul, 2009).

Phytorégulateurs	Solvant	Diluent	Conditions de stockage		Stérilisation
			Poudre	Solution	
BAP	1N NaOH	Eau	TA	0-5°C	A/F
<i>mT</i>	KOH 1 N	Eau	0-5°C	0-5°C	A/F
TDZ	DMSO	Eau	TA	0-5°C	A/F
GA <sub>3</sub>	Ethanol	Eau	TA	0-5°C	A/F
AIB	Ethanol ou 1N NaOH	Eau	0-5°C	- 0°C	A/F

A/F : Autoclavage/Filtration.

TA : Température ambiante.

A l'issue de l'expérimentation précédente, le TDZ a été retenu pour évaluer son effet combiné avec deux autres substances hormonales (GA<sub>3</sub> et AIB) sur la microtubérisation (Tableau 10).

**Tableau 10.** Différentes concentrations et combinaisons de régulateurs de croissance testées pour évaluer la microtubérisation chez les deux génotypes de pommes de terre étudiés.

Régulateurs de croissance (mg l <sup>-1</sup> )		
TDZ	GA <sub>3</sub>	AIB
0,2	1	-
0,4	1	-
0,2	-	0,01
0,4	-	0,01

#### 2.6.4 Effet de la source du carbone (sucres)

L'efficacité du milieu MS complété par du sorbitol ou du mannitol dans la production des microtubercules de pomme de terre a été étudiée. L'expérience a été poursuivie avec des explants à un seul nœud. Les explants ont été excisés essentiellement à partir des parties médianes des pousses des vitroplants pour maintenir l'homogénéité des explants, et ont été cultivés dans des bocaux contenant 50 ml de milieu de microtubérisation (milieu de MS) complété par 80 g l<sup>-1</sup> de saccharose utilisé comme témoin et différentes concentrations (0 ; 30 ; 60 ; 80 ; 120 et 160 g l<sup>-1</sup>) de mannitol et de sorbitol. L'expérience a été menée de manière factorielle sur la base d'un plan complètement aléatoire avec trois réplications (chaque bocal étant considéré comme une réplication contenant dix explants).

#### 2.7 Etude de la tolérance *in vitro* aux stress abiotiques

##### 2.7.1 Effet de la contrainte saline

L'objectif principal de cette étude était de révéler la variabilité de la tolérance *in vitro* au stress salin des deux variétés de pommes de terre étudiées. L'effet de la contrainte saline sur l'induction de microtubercules a été évalué.

Pour cela, des segments de tige à un seul nœud avec une seule feuille issus de vitroplants âgés de 4 à 6 semaines ont été excisés et cultivés dans un milieu MS basal semi solide (4 g l<sup>-1</sup> d'agar), contenant 80 g l<sup>-1</sup> de saccharose et différentes doses de NaCl : 0 ; 5 ; 10 ; 15 et 20 g l<sup>-1</sup>. Dix explants ont été cultivés par bocal, avec trois répétitions pour chaque concentration de NaCl.

### **2.7.2 Effet du stress hydrique**

Afin de déterminer le seuil de tolérance au stress hydrique *in vitro* des deux cultivars de pomme de terre étudiés, sept concentrations croissantes (0 ; 5 ; 10 ; 15 ; 20 ; 25 et 30 g l<sup>-1</sup>) de polyéthylène glycol (PEG-6000) ont été testées. Le milieu de base utilisé est celui de Murashige et Skoog (1962) contenant 80 g l<sup>-1</sup> de saccharose, et 4 g l<sup>-1</sup> d'agar. Dix explants ont été placés dans chaque bocal de culture, avec trois répétitions par concentration de PEG testée. Les explantsensemencés ont été incubés pendant douze semaines dans les mêmes conditions ambiantes (température et photopériode) précédemment décrites.

## **2.8 Etude de la conservation des microtubercules**

### **2.8.1 Effet du calibrage sur la conservation des microtubercules**

À la fin de chaque expérimentation, les microtubercules récoltés ont été triés en trois groupes selon leur poids : <0,5 g, 0,5-1 g, et > 1g. Les microtubercules classés ont été conservés au froid à 4 °C. Les paramètres de levée des microtubercules des deux cultivars étudiés ont été évalués après 30 ; 60 ; 90 et 120 jours de stockage. Pour chaque durée de stockage, 30 microtubercules répartis en 3 répétitions sont mis en conservation. La période d'incubation est calculée pour chaque microtubercule par différence entre sa date de germination (apparition d'un premier germe) et sa date de boulage (apparition du premier tubercule fils de diamètre supérieur au double de celui du stolon ou apparition du premier tubercule fils sessile de diamètre supérieur à 1 mm).

### **2.8.2 Effet de la déshydratation sur la cryoconservation des microtubercules**

Pour l'essai de cryoconservation, dix microtubercules uniformes (~5 mm) produits lors des expériences précédentes ont été utilisés pour déterminer la teneur en eau de chaque cultivar avant sa cryoconservation. La dessiccation des microtubercules a été effectuée à l'aide de gel de silice sec et stérile dans des boîtes de Pétri en verre de 5 cm. Chaque ensemble de microtubercules a été déshydraté pendant 0 ; 30 ; 60 ; 90 et 120 min avec 3 répétitions ( $n = 30$ ). Après chaque période de dessiccation, les microtubercules ont été transférés dans des flacons cryogéniques stériles de 2 ml (5 microtubercules par flacon cryogénique) et plongés rapidement dans l'azote liquide (LN) pendant 10 min. Les contrôles consistaient en des microtubercules semés dans le milieu de culture après chaque période de dessiccation mais sans exposition à l'azote liquide (LN). Les flacons contenant les microtubercules

cryoconservés ont été réchauffés dans un bain-marie à 45 °C pendant 60 secondes et réhydratés (5-10 min) dans un milieu MS liquide à température ambiante ( $25 \pm 1$  °C).

Les microtubercules de tous les traitements sont inoculés dans des tubes à essais en verre contenant 10 ml de milieu de base de Murashige et Skoog (1962) additionné de vitamines de Morel (Morel et Wetmore, 1951), 30 g l<sup>-1</sup> de saccharose et 2 g l<sup>-1</sup> de charbon actif (Benmahioul et al, 2015; Belguendouz et al, 2021). Les cultures sont placées dans une chambre de croissance programmée à 25 °C avec une photopériode de 16 heures de lumière/8 heures d'obscurité et une intensité lumineuse de 90  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  fournie par des ampoules fluorescentes blanc froid. Le pourcentage de microtubercules survivants, le nombre de pousses et le nombre de racines par traitement et par cultivar étudié ont été enregistrés après 4 semaines de culture.

## **2.9 Paramètres d'appréciation**

A la fin des essais, les données ont été enregistrées à partir d'un ensemble de 30 vitroplants par cultivars pour les paramètres morphologiques suivants : le nombre de feuilles, d'entre-nœuds et de microtubercules, la longueur des racines et des pousses et le diamètre des microtubercules. La biomasse fraîche a été déterminée pour les racines, les parties aériennes et les microtubercules pour chaque traitement testé.

## **2.10 Analyse statistique**

IBM SPSS Statistics version 25, Microsoft Excel et STATISTICA version 10 ont été utilisés conjointement pour analyser les données. Toutes les expériences ont été menées selon un plan absolument aléatoire avec trois répétitions par traitement (Cultivar  $\times$  Traitement  $\times$  Paramètre) et dix explants par réplique, et les données ont été présentées sous forme de valeur moyenne  $\pm$  erreur standard dérivée ( $\pm\text{SD}$ ). Les différences entre les moyennes ont été analysées en utilisant un modèle linéaire pour l'analyse de la variance (ANOVA). Les données ont été transformées en valeurs logarithmiques et racine carrée, respectivement, pour cv. Dr et cv. Sp, lorsque cela était nécessaire pour normaliser la distribution avant d'effectuer l'analyse de variance (Sajid et Aftab, 2009; Khalid et Aftab, 2016; Raudonius, 2017). La signification statistique a été vérifiée par le test des plages multiples de Duncan (DMRT) pour séparer les moyennes de traitement à une différence critique ( $P$ ) de  $\leq 0,05$ . Le coefficient de corrélation de Pearson R et la régression linéaire ont été analysés et les relations entre tous les variables ont été considérées significatives à un intervalle de confiance de 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

# *Résultats & Discussion*

## Chapitre III. Résultats et discussion

### 1 Effet de l'assainissement des vitroplants

#### 1.1 Taux de contamination des explants

En raison que les microboutures de la première génération sont obtenues à partir des tubercules, la contamination était un peu élevée de sorte qu'on a noté un taux d'infection de 26,7% et 42,2% respectivement pour le cv. *Désirée* et le cv. *Spunta*. Ces niveaux élevés d'infection sont dus probablement aux tubercules qui peuvent avoir des contaminants au niveau du tissu végétal et que la stérilisation ne suffit pas pour les enlever. Ces infections microbiologiques sont donc la conséquence de la survie des microorganismes phytopathogènes (en particulier bactéries et/ou champignons) à la surface des explants stérilisés, ou sont endophytiques (à l'intérieur du tissu végétal). Ces microorganismes qui échappent aux techniques usuelles de stérilisation peuvent engendrer des pertes considérables en cultures *in vitro*.

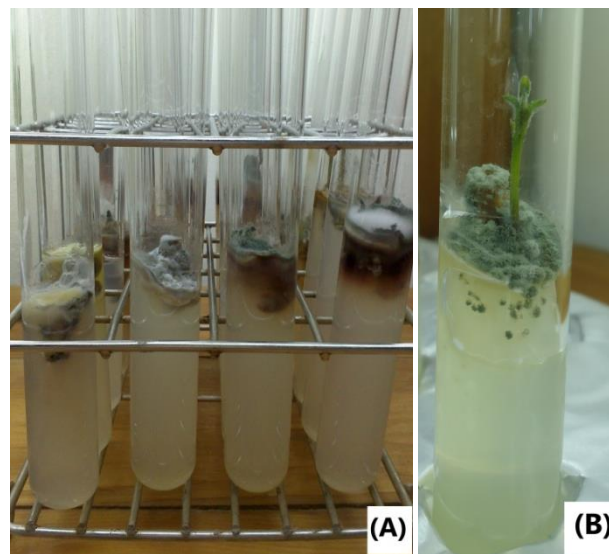
En ce qui concerne le taux de régénération, nous avons noté les pourcentages suivants 73,3% et 57,8% respectivement pour le cv. *Désirée* et le cv. *Spunta*. Ainsi, nous avons constaté la sensibilité de la variété *Spunta* aux infections microbiologiques par rapport à la variété *Désirée* avec des rapports constants de 20% et cela pour le milieu liquide (0 g l<sup>-1</sup> agar) et le milieu solide (8 g l<sup>-1</sup> agar) (Tableau 11).

Il est à signaler que les tubes à essai présentant des signes de contamination sont éliminés. L'aspect qualitatif de ces infections microbiologiques est de deux types : des contaminations bactériennes sur le milieu de culture (colonies laiteuses blanche) et sur l'explant (colonies jaune), et des contaminations fongiques de l'explant et du milieu de culture (aspect laineux blanc-gris) (Figure 10).

Les résultats obtenus montrent également que le type de milieux de culture a influencé le taux de contamination et de régénération chez la pomme de terre. Une moyenne de 70% de contamination a été enregistrée pour le milieu liquide (0 g l<sup>-1</sup> agar) contre seulement 16,7% chez les explants cultivés sur les deux milieux nutritifs semi-solide (4 g l<sup>-1</sup>) et solide (8 g l<sup>-1</sup>). Des taux moyens de développement *in vitro* de 30 et 83,3% ont été enregistrés respectivement pour les milieux de culture suscités (Tableau 11).

**Tableau 11.** Effet de la concentration en agar-agar du milieu de culture sur les taux de contamination et de régénération *in vitro* de deux variétés de pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*).

	Milieu liquide (0 g l <sup>-1</sup> agar-agar)		Milieu semi-solide (4 g l <sup>-1</sup> agar-agar)		Milieu solide (8 g l <sup>-1</sup> agar-agar)		Moyennes	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
	Nombre d'explants repiqués	30	30	30	30	30	30	90
Nombre d'explants contaminés (%)	60	80	13,3	20	6,7	26,7	26,7	42,2
Nombre d'explants régénérés (%)	40	20	86,7	80	93,3	73,3	73,3	57,8
Moyennes	% Contamination	70	16,7		16,7			
	% Régénération	30	83,3		83,3			



**Figure 10.** Types de contaminants microbiologiques observés sur les milieux de culture et les vitroplants après une semaine (A) et deux semaines de culture (B).

Certains microorganismes endophytes sont bénéfiques, voire nécessaires à la plante hôte en améliorant sa nutrition et parfois sa défense contre les agents pathogènes mais deviennent problématiques en micropropagation où une asepsie totale est requise (Guan et al, 2005). L'élimination de ces microorganismes endophytes par la stérilisation de surface est généralement inefficace, sauf lorsque des stérilisants plus puissants et systémiques sont utilisés (Danso et al, 2011).

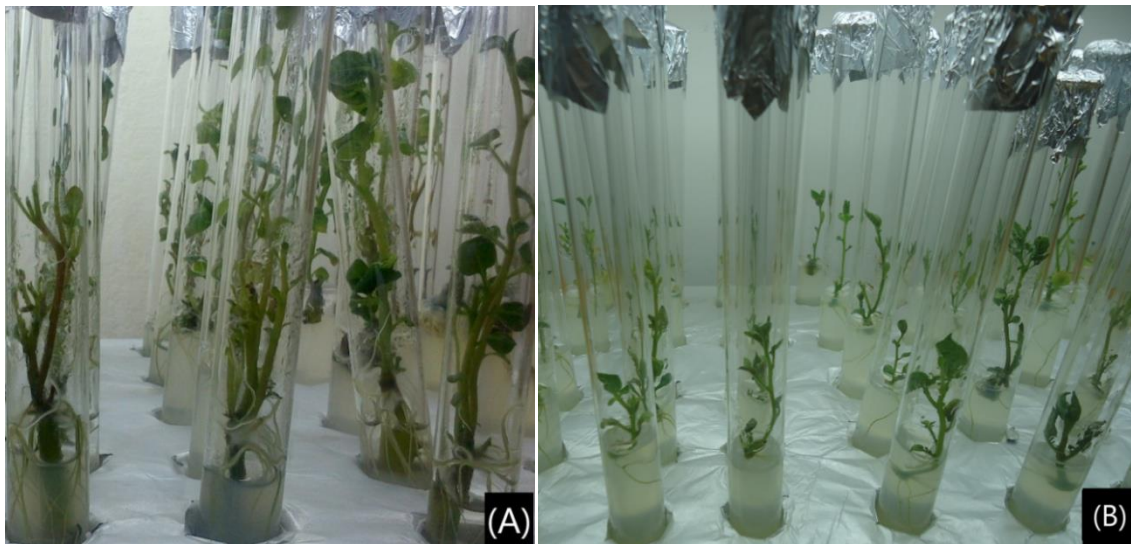
Afin de limiter les pertes dues aux contaminations microbiologiques en cultures *in vitro* et dans le but d'identifier un agent désinfectant efficace sans affecter la réactivité et la morphologie des tissus végétaux, de nombreuses études ont été menées. Des résultats encourageants ont été enregistrés chez plusieurs plantes : la banane (Msogoya et al, 2012; El-Banna et al, 2021), *Saccharum officinarum* (Wagih et al, 2009), *Ipomoea batatas* (Jena et Samal, 2011), *Jatropha curcas* (Misra et al, 2009) et *Solanum tuberosum* (Venkatasalam et

al, 2013; Rahman et al, 2017). D'un autre côté, Kieu et al. (2021) signalent qu'une concentration plus élevée en agar-agar réduira la contamination et l'hyperhydratation.

## 1.2 Développement des vitroplants

Les résultats relatifs au développement des vitroplants montrent que la concentration en agar-agar des milieux de culture a affecté les paramètres de croissance testés (Figure 12A-C). Les résultats ont également varié de manière significative entre les deux cultivars étudiés. Toutefois, les meilleures réponses morphologiques chez les deux variétés ont été observées sur les milieux semi-solides ( $4 \text{ g l}^{-1}$ ) (Figure 11). La longueur de la tige la plus importante ( $6,78 \pm 1,67 \text{ cm}$ ) a été enregistrée chez les vitroplants de la variété *Désirée*. Le nombre de feuilles a suivi une tendance similaire à celle de la longueur des tiges. Le meilleur rendement ( $11,10 \pm 3,62$  feuilles/vitroplant) a été enregistré chez la variété *Désirée* (Figure 12). Pareil pour la croissance racinaire, une longueur de  $3,42 \pm 1,18 \text{ cm}$  a été mesurée chez les vitroplants de *Désirée* cultivés sur le milieu semi-solide.

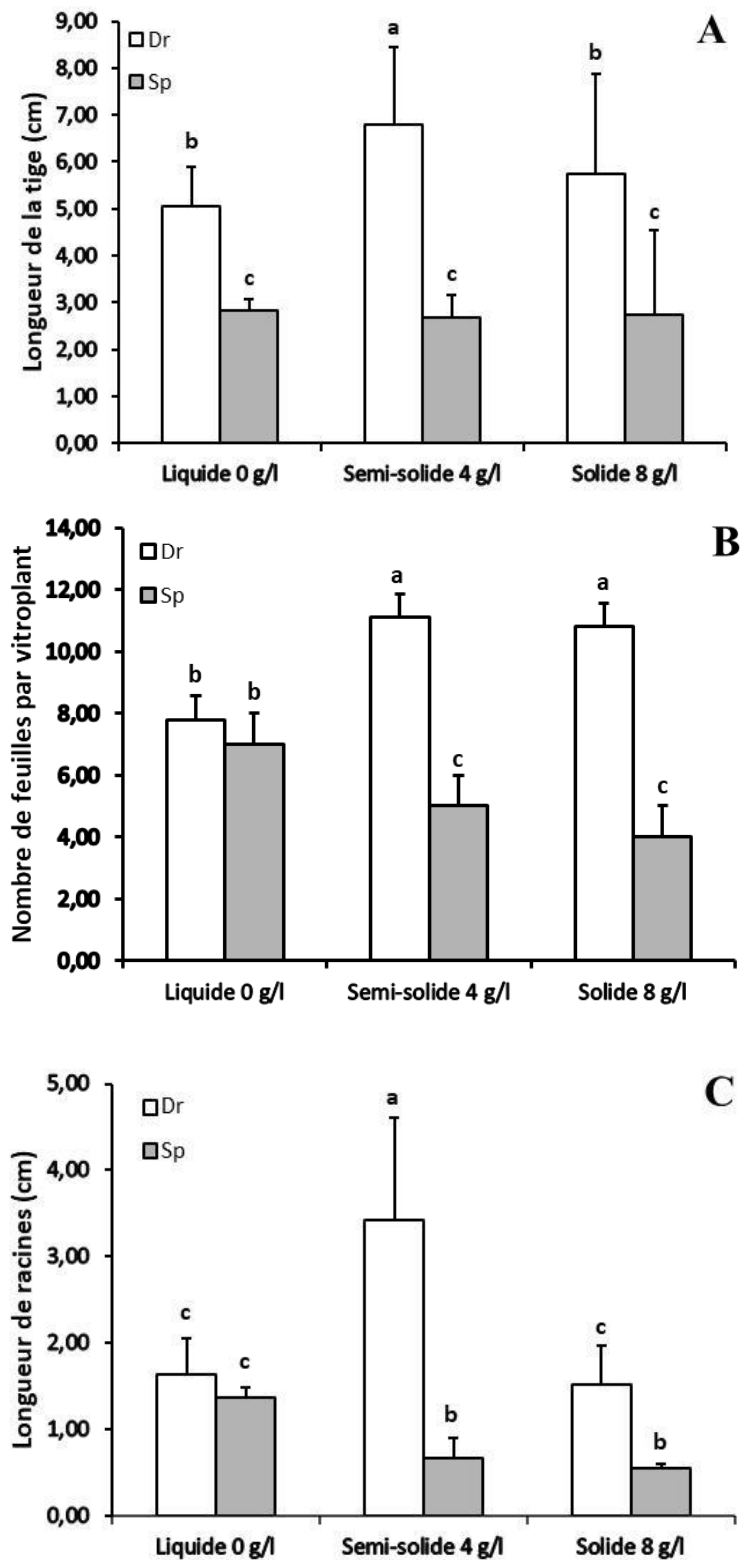
Il est à noter que pour cette phase de micropropagation, le développement de la partie aérienne est plus important pour produire des segments nodaux qui servent à des explants pour les tests à venir.



**Figure 11.** Aspect morphologique des vitroplants de pomme de terre produits *in vitro*.

(A) Après 1<sup>er</sup> repiquage des microboutures issues de semences (âgés de 4 semaines), (B) Après 2<sup>ème</sup> subculture des segments nodaux de vitroplants sur un milieu semi-solide (2 semaines de culture).





**Figure 12.** Effets de l'agar-agar à différentes concentrations sur la longueur de la tige (A), le nombre de feuilles (B) et la longueur de racines par vitroplant (C) de deux cultivars de pomme de terre *Désirée* et *Spunta*.

Chaque valeur représente la moyenne de 30 réplicats par traitement. Les mesures ont été enregistrées après 4 semaines de culture. Les barres avec la même lettre ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité séparée par le test DMRT.

Ces résultats peuvent s'expliquer par un milieu à consistance semi-solide qui permet un meilleur contact physique entre les explants et le milieu de culture, ce qui favorise l'assimilation des nutriments et de l'eau, par rapport à un milieu de culture solide (Benmahioul, 2009; Benmahioul et al, 2009; Monteiro et al, 2018). D'autre part, l'induction des explants dans le milieu liquide était légèrement faible à cause de l'apparition d'une hyperhydratation. Une des limites associées à ce phénomène est la perte irréversible du potentiel de régénération (Alves et al, 2021).

## **2 Effets des milieux de culture et du charbon actif sur la production des microtubercules**

Les effets de l'agar et du charbon actif (CA) sur le développement des explants et la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre *Désirée* et *Spunta* ont été étudiés. Des segments nodaux ont été cultivés sur des milieux nutritifs contenant différentes concentrations d'agar-agar (0 ; 4 et 8 g l<sup>-1</sup>) et différents niveaux de CA (0 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 et 10 g l<sup>-1</sup>). Ces deux facteurs testés ont clairement affecté les différents paramètres de croissance étudiés (Tableau 12).

Après 28 jours de culture, les caractères morphologiques des vitroplants de pomme de terre cultivés sur les milieux nutritifs solidifiés par les différentes doses d'agar ont révélé une couleur verte fraîche. Ce phénotype est lié à la synthèse de l'anthocyane exprimée par la coloration de la tige et du feuillage avec une pigmentation anthocyanique abondante (Strygina et al, 2019). Cependant, la meilleure vigueur des vitroplants a été observée dans les milieux liquides. En revanche, les données du tableau 12, montrent également l'effet bénéfique du charbon actif (CA) sur les paramètres étudiés, notamment la longueur des racines, la hauteur des vitroplants, le nombre de feuilles et la biomasse fraîche. Selon Mensuali-sodi et al. (1993), l'augmentation du nombre de feuilles et de la longueur des pousses en présence du charbon actif reflète l'excellente qualité des vitroplants. En général, chez les deux cultivars étudiés, les réponses morphologiques les plus importantes ont été observées avec la concentration de 4 g l<sup>-1</sup> agar-agar et 1 g l<sup>-1</sup> de charbon actif (CA). L'effet bénéfique de l'agar en combinaison avec le charbon actif sur l'aspect qualitatif des vitroplants a été déjà signalé chez d'autres plantes (Benmahioul et al, 2012a; Kaur et al, 2017).

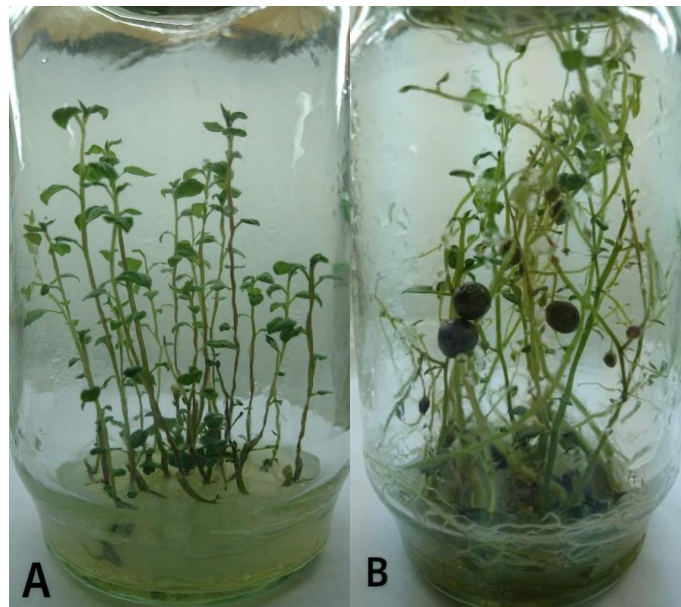
**Tableau 12.** Effets de la concentration en agar-agar et en charbon actif (CA) sur la croissance de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Composition de milieu	[g l <sup>-1</sup> ]	Longueur de la racine (cm)		Longueur des pousses (cm)		Nombre de feuilles		Nombre d'entre-nœuds		Biomasse fraîche de racines (g)		Biomasse fraîche des parties aériennes fanées (g)	
		cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
Agar	0	2,32±0,55	2,63±0,88	4,02±1,78	5,14±1,59	5,70±2,79	4,83±1,39	3,80±1,47	3,10±1,09	0,31±0,20	0,50±0,46	0,48±0,16	0,57±0,34
	4	4,33±1,39	5,80±1,85	5,97±1,69	10,04±3,58	6,10±1,95	7,90±2,83	3,63±1,30	4,60±1,75	1,62±0,42	1,41±1,02	2,07±0,02	1,28±0,64
	8	4,66±1,61	3,79±3,36	4,34±1,63	5,63±2,15	5,97±1,69	6,03±2,43	3,27±1,01	3,87±1,74	0,26±0,03	0,18±0,09	0,46±0,08	0,38±0,12
CA	0	6,67±0,54	7,77±1,89	18,50±0,51	11,63±3,24	9,37±2,08	7,20±2,22	9,47±0,51	6,10±2,02	0,29±0,07	0,29±0,17	0,47±0,05	1,59±0,22
	0,5	7,13±1,81	7,03±2,37	11,37±3,09	8,27±1,63	7,53±2,66	4,77±0,82	5,93±1,64	3,30±1,15	0,59±0,32	0,29±0,01	1,55±0,50	1,56±0,74
	1	8,30±1,70	4,67±0,99	14,65±4,68	11,13±4,08	7,80±1,75	5,73±1,80	6,33±1,63	4,87±1,59	0,81±0,31	0,31±0,17	1,55±0,48	1,69±0,86
	2	8,00±0,81	4,17±1,44	11,85±4,27	10,90±3,08	6,63±1,79	8,67±1,47	4,87±1,28	4,60±1,16	0,28±0,06	0,27±0,04	1,34±0,17	1,74±0,73
	5	5,57±1,85	4,43±0,94	9,63±3,52	5,80±1,49	7,80±2,12	4,17±0,83	4,80±1,42	2,67±0,66	0,38±0,11	0,40±0,19	1,60±0,46	1,43±0,77
	10	5,80±2,04	5,20±1,47	11,27±3,61	10,20±3,31	9,57±2,84	7,57±2,14	5,10±2,14	3,17±0,87	0,29±0,07	0,19±0,04	1,39±0,67	1,46±0,77

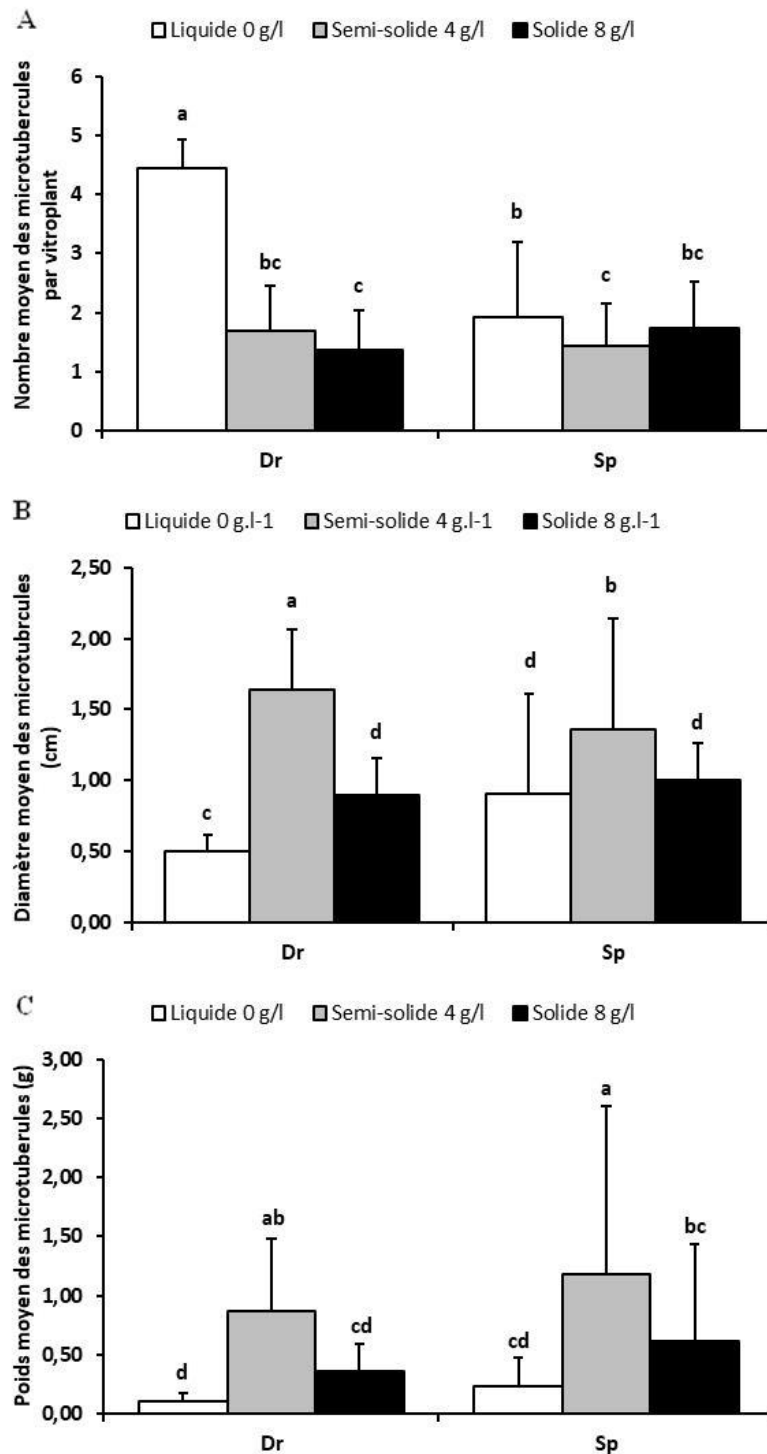
Les valeurs des paramètres représentent les moyennes ± SD de 30 répétitions par traitement pour les cultivars cv.Dr. et cv.Sp.  
Les moyennes ont été comparées par le test DMRT à 5 % de probabilité.

## 2.1 Effet de l'agar-agar

Pour mettre en évidence les effets de l'agar-agar sur la tubérisation de la pomme de terre en conditions *in vitro* (Figure 13), certains paramètres ont été étudiés : le nombre, le diamètre et le poids des microtubercules (Figure 16A). Les deux cultivars étudiés ont produit plus d'un microtubercule par vitroplant pendant les 12 semaines de culture sur différentes concentrations d'agar-agar. Le nombre de microtubercules pour le cv. *Désirée* (Figure 14A) était significativement plus élevé ( $4,43 \pm 0,50$ ) sur le milieu liquide ( $0 \text{ g l}^{-1}$ ) comparativement aux autres milieux solidifiés par agar-agar où nous avons enregistré  $1,70 \pm 0,75$  et  $1,37 \pm 0,66$  pour les milieux semi-solides et solides respectivement. Toutefois, une légère différence, qui reste non significative, a été enregistrée chez le cv. *Spunta* : le nombre moyen de microtubercules était de  $1,93 \pm 1,25$  chez le lot contrôle et  $1,43 \pm 0,72$  et  $1,73 \pm 0,78$  pour les milieux solidifiés par agar-agar à la dose de 4 et  $8 \text{ g l}^{-1}$  respectivement (Figure 14A).



**Figure 13.** Aspect morphologique de microtubercules induits et développés après 4 semaines (A) et 12 semaines (B) de culture sur le milieu semi-solide.



**Figure 14.** Effets de l'agar-agar sur le nombre de microtubercules par vitroplant (A), le diamètre (B) et le poids des microtubercules (C) des deux cultivars de pomme de terre étudiés *Désirée* et *Spunta*.

Chaque valeur représente la moyenne de 30 réplicats par traitement. Les mesures ont été enregistrées après 12 semaines de culture. Les barres avec la même lettre ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité séparée par le test DMRT.

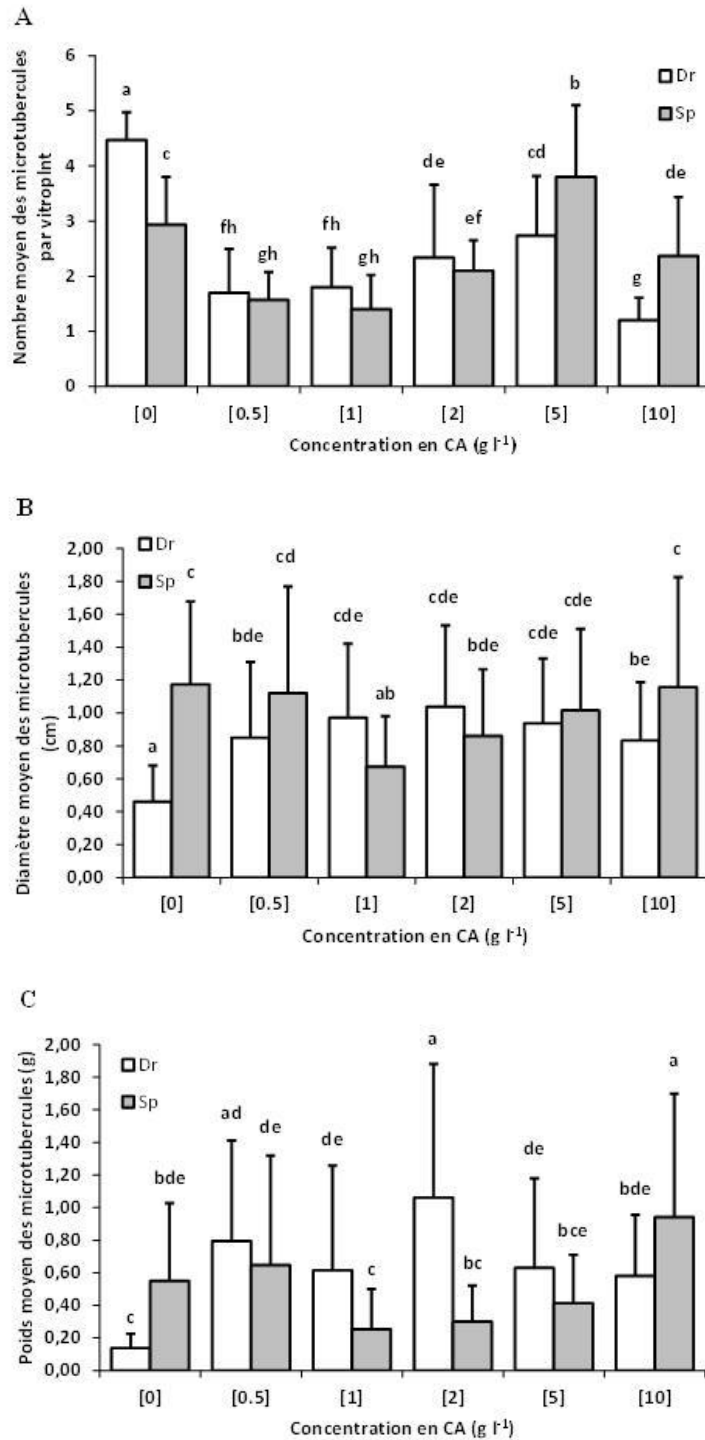
Chez le cv. *Désirée*, le diamètre des microtubercules (Figure 14B) est significativement plus grand ( $1,64 \pm 0,43$  cm) comparativement à celui du cv. *Spunta* ( $1,36 \pm 0,78$  cm) sous le milieu semi-solide (Figure 13). Cependant, sur le milieu liquide, le diamètre des microtubercules chez les deux cultivars *Désirée* et *Spunta* était faible de l'ordre de ( $0,50 \pm 0,12$  cm) et ( $0,91 \pm 0,70$  cm) respectivement. De même, le poids des microtubercules était meilleur dans les milieux solidifiés à 4 g d'agar-agar où le cv. *Spunta* a produit un poids moyen significativement plus élevé ( $1,18 \pm 1,42$  g) comparativement à celui enregistré chez le cv. *Désirée* ( $0,87 \pm 0,62$  g) (Figure 14C).

Le poids des microtubercules produits sur le milieu solide (8 g l<sup>-1</sup>d'agar) a également varié de manière significative entre les deux cultivars étudiés. L'augmentation de la concentration en agar-agar dans le milieu MS induit un stress hydrique en diminuant le potentiel hydrique du milieu, ce qui affecte négativement la croissance des explants nodaux de semis *in vitro* (Gopal et al, 2008). De plus, sur le milieu liquide, le poids des microtubercules du cv. *Désirée* était significativement plus petit comparé à celui des microtubercules issus du cv. *Spunta* (Figures 14C et 16A). Ces résultats ont démontré que le grossissement des microtubercules dépendait de type du milieu de culture utilisé. Ebadi et Iranbakhsh (2011) ont également constaté que l'augmentation de la concentration en saccharose (de 60 à 80 g l<sup>-1</sup>) dans le milieu liquide s'accompagne d'une diminution du poids frais moyen des microtubercules. Dans l'ensemble, une concentration de 8% de saccharose constitue une source de carbone idéale et fournit l'osmolarité requise pour la croissance des microtubercules. Nos essais ont montré que le milieu semi-solide est le meilleur pour la production de microtubercules de qualité (diamètre >1cm et poids >1g), c'est ce que nous avons enregistré avec le cv. *Spunta* (1,36 cm et 1,18 g). Ces caractéristiques de microtubercules sont utilisées dans la production de pommes de terre de semence (Rahman et al, 2013; Sonnewald et Sonnewald, 2014 ; Wróbel, 2015 ; Hossain et al, 2017b).

## 2.2 Effet du charbon actif sur la production des microtubercules

Afin d'évaluer son effet sur la microtubérisation de la pomme de terre, le charbon actif (CA) a été introduit à différentes doses dans le milieu de culture.

Les résultats obtenus ont montré que l'addition de CA avait un impact considérable sur les microtubercules produits (Figures 15 et 16B). Un nombre maximum de microtubercules a été enregistré avec le lot témoin (contrôle) et la concentration de CA de 5 g l<sup>-1</sup> ( $4,47 \pm 0,51$  et  $2,73 \pm 1,08$  respectivement pour le cv. *Désirée* et  $2,93 \pm 0,87$  et  $3,80 \pm 1,30$  respectivement pour le cv. *Spunta* (Figure 15A).



**Figure 15.** Effet du charbon actif (CA) sur le nombre de microtubercules par vitroplant (A), le diamètre (B) et le poids des microtubercules (C) des deux cultivars de pomme de terre étudiés *Désirée* (Dr) et *Spunta* (Sp).

Chaque valeur représente la moyenne de 30 réplicats par traitement. Les mesures ont été enregistrées après 12 semaines de culture. Les barres avec la même lettre ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité séparée par le test DMRT.

Chez le cv. *Spunta* (Figure 15B), le diamètre des microtubercules enregistré sur le milieu contrôle ( $1,17 \pm 0,50$  cm) est significativement plus grand que celui des milieux additionnés de CA ( $1,16 \pm 0,67$  cm et  $1,12 \pm 0,65$  cm) noté avec les doses respectives de 10 et  $0,5 \text{ g l}^{-1}$ .

Chez le cv. *Désirée*, une différence significative dans le diamètre des microtubercules a été observée entre le contrôle ( $0,46 \pm 0,22$  cm) et la concentration du CA de  $10 \text{ g l}^{-1}$  ( $0,83 \pm 0,35$  cm) et de  $0,5 \text{ g l}^{-1}$  ( $0,85 \pm 0,46$  cm). De même, le diamètre moyen des microtubercules du cv. *Désirée* était significativement plus grand dans le milieu supplémenté de  $2 \text{ g l}^{-1}$  et  $1 \text{ g l}^{-1}$  de CA où nous avons enregistré respectivement  $1,04 \pm 0,50$  et  $0,97 \pm 0,45$  cm (Figure 15B).

La Figure 15C relative au poids des microtubercules, a mis en évidence l'effet bénéfique du CA où nous avons noté dans le milieu contenant 2 et  $10 \text{ g l}^{-1}$  ( $1,06 \pm 0,82$  et  $0,94 \pm 0,76$  g), respectivement, pour le cv. *Désirée* (Dr) et le cv. *Spunta* (Sp). Le poids des microtubercules était encore significativement plus élevé dans le milieu contenant  $0,5 \text{ g l}^{-1}$  de CA pour les deux cultivars (cv. Dr :  $0,79 \pm 0,62$  g; cv. Sp :  $0,65 \pm 0,67$  g). Toutefois, aucune différence significative du poids des microtubercules n'a été observée entre le cv. Dr ( $0,14 \pm 0,09$  g) et le cv. Sp ( $0,25 \pm 0,25$  g), respectivement, pour les traitements 0 et  $2 \text{ g l}^{-1}$  de CA.

Le coût élevé des milieux de culture *in vitro* engendre des problèmes pour la production de microtubercules. Le charbon actif (CA) est fréquemment utilisé dans les milieux de culture de tissus végétaux car il favorise la croissance *in vitro* (Thomas, 2008 ; Benmahioul et al, 2012a). Selon Nhut et al. (2006), des microtubercules de 3,19 mm de diamètre, et de 49,82 mg de poids ont pu être récoltés sur des milieux de culture contenant  $0,5 \text{ g l}^{-1}$  CA et  $80 \text{ g l}^{-1}$  de saccharose avec ou sans agar. Dans une condition similaire, Bizarri et ses collaborateurs ont rapporté que le milieu contenant  $2 \text{ g l}^{-1}$  de CA a produit des microtubercules plus lourds, 165 mg pour *Monalisa* et 148 mg pour *Spunta* (Bizarri et al, 1995). La variation du poids des microtubercules recommande que les réponses *in vitro* de la pomme de terre au saccharose puissent être dues à la spécificité du cultivar ou à l'aptitude à ajuster le saccharose. Chez l'igname, Polzin et al. (2014) ont constaté un effet positif de CA sur la croissance des pousses en milieu semi-solide ou en milieu liquide dans les bioréacteurs RITA<sup>®</sup>. Des résultats similaires ont été obtenus lors de la multiplication *in vitro* de *Prunus cerasifera* dans des bioréacteurs RITA<sup>®</sup> avec l'ajout de  $1 \text{ mg l}^{-1}$  CA (Nasri et al, 2019).



### **2.3 Analyse de la variance ANOVA des paramètres morphologiques de microtubercules**

Les résultats obtenus sont statistiquement significatifs pour les deux cultivars étudiés et les différents traitements du milieu de culture (Tableau 13). Tous les paramètres des microtubercules mesurés ont été significativement influencés par la concentration d'agar-agar, à l'exception de l'effet du cultivar sur le diamètre et le poids des microtubercules et de l'interaction (Agar x cultivars) sur le poids des microtubercules.

En outre, et à l'exception du diamètre, tous les autres paramètres des microtubercules ont été affectés significativement par la dose du charbon actif (CA). Cependant, l'interaction entre les deux cultivars et l'ensemble des paramètres des microtubercules n'a aucun effet significatif. Il y avait un effet apparent sur la croissance des microtubercules avec l'ajout de CA sur un milieu semi-solide.

**Tableau 13.** Analyse factorielle multivariée des effets de l'agar-agar, du charbon actif et du cultivar sur les caractéristiques morphologiques des microtubercules de la pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*).

Variables Dépendantes	Source	ddl		Somme des carrés		Carré moyen		F		Signification	
		cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
<b>Nombre de microtubercules</b>	Modèle	1	1	56,162	344,577	56,162	344,577	318,122	4272,799	0,000	0,000
	Agar	2	2	16,602	10,014	8,301	5,007	47,020	62,090	0,000	0,000
	Cultivars	1	1	4,416	2,703	4,416	2,703	25,015	33,524	0,000	0,000
	Agar x cultivars	2	2	11,506	6,673	5,753	3,337	32,588	41,375	0,000	0,000
	Erreur	174	174	30,718	14,032	0,177	0,081				
	Total	179	179	63,242	33,423						
<b>Nombre de microtubercules</b>	Modèle	1	1	182,873	792,271	182,873	792,271	1130,784	9713,017	0,000	0,000
	CA	5	5	42,675	24,439	8,535	4,888	52,776	59,923	0,000	0,000
	Cultivars	1	1	0,137	0,013	0,137	0,013	0,847	0,163	0,358	0,687
	CA x cultivars	5	5	11,337	6,891	2,267	1,378	14,020	16,896	0,000	0,000
	Erreur	348	348	56,279	28,386	0,162	0,082				
	Total	359	359	110,428	59,729						
<b>Diamètre des microtubercules</b>	Modèle	1	1	1,757	175,738	1,757	175,738	9,931	3861,182	0,002	0,000
	Agar	2	2	18,022	4,479	9,011	2,240	50,934	49,208	0,000	0,000
	Cultivars	1	1	0,319	0,063	0,319	0,063	1,801	1,395	0,181	0,239
	Agar x cultivars	2	2	4,893	1,000	2,446	0,500	13,828	10,983	0,000	0,000
	Erreur	174	174	30,783	7,919	0,177	0,046				
	Total	179	179	54,015	13,462						
<b>Diamètre des microtubercules</b>	Modèle	1	1	19,387	308,920	19,387	308,920	70,476	5460,290	0,000	0,000
	CA	5	5	3,736	0,622	0,747	0,124	2,716	2,199	0,020	0,054
	Cultivars	1	1	2,341	0,507	2,341	0,507	8,509	8,962	0,004	0,003
	CA x cultivars	5	5	14,869	2,863	2,974	0,573	10,810	10,119	0,000	0,000
	Erreur	348	348	95,732	19,688	0,275	0,057				
	Total	359	359	116,678	23,680						
<b>Poids des microtubercules</b>	Modèle	1	1	298,556	71,610	298,556	71,610	320,404	631,855	0,000	0,000
	Agar	2	2	103,143	8,615	51,571	4,307	55,345	38,007	0,000	0,000
	Cultivars	1	1	5,727	0,493	5,727	0,493	6,146	4,353	0,014	0,038
	Agar x cultivars	2	2	8,384	0,085	4,192	0,043	4,499	0,377	0,012	0,686
	Erreur	174	174	162,136	19,720	0,932	0,113				
	Total	179	179	279,389	28,913						
<b>Poids des microtubercules</b>	Modèle	1	1	497,182	159,081	497,182	159,081	348,326	1414,793	0,000	0,000
	CA	5	5	45,550	3,795	9,110	0,759	6,383	6,751	0,000	0,000
	Cultivars	1	1	4,695	0,454	4,695	0,454	3,290	4,037	0,071	0,045
	CA x cultivars	5	5	40,770	5,260	8,154	1,052	5,713	9,356	0,000	0,000
	Erreur	348	348	496,717	39,130	1,427	0,112				
	Total	359	359	587,733	48,639						

## 2.4 Interaction agar-agar/charbon actif/génotype sur la production de microtubercules

La gamme de microtubercules les plus lourds (>1 g), a été produite par le cv. *Désirée* dans le milieu MS+CA avec une concentration de 2 g l<sup>-1</sup> puis par le cv. *Spunta* dans le milieu contenant 10 g l<sup>-1</sup> de CA (Tableau 14). Ces deux doses de charbon actif (2 et 10 g l<sup>-1</sup>) ont donné les meilleurs rendements : le plus grand nombre et les plus gros microtubercules. Ces résultats indiquent que le poids des microtubercules chez la pomme de terre est relativement dépendant du génotype (Figure 16).

**Tableau 14.** Optimisation de la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*) cultivés sur le milieu nutritif MS additionnés de diverses concentrations d'agar-agar et du charbon actif (CA).

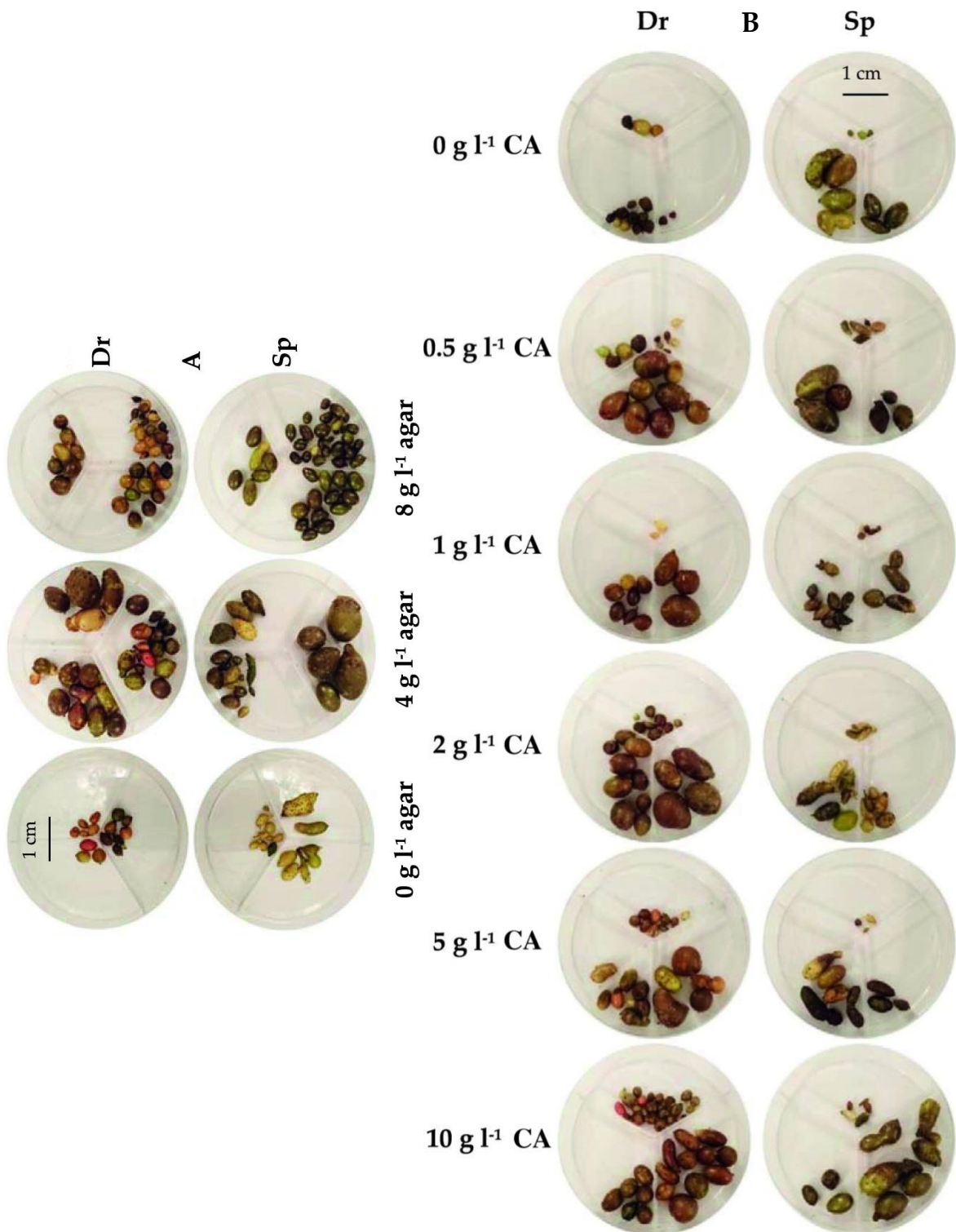
Cultivar	Facteurs Traitement	[g l <sup>-1</sup> ]	Nombre de microtubercules par vitroplant	Nombre de microtubercules par bocal dans différentes classes de poids		
				<0,5 g	0,5-1 g	>1 g
<i>Désirée</i>	Agar	0	4,43 ± 0,50 <sup>a</sup>	10,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>e</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>e</sup>
		4	1,70 ± 0,75 <sup>bc</sup>	2,40 ± 3,86 <sup>cde</sup>	4,40 ± 3,10 <sup>c</sup>	3,00 ± 3,60 <sup>cd</sup>
		8	1,37 ± 0,67 <sup>c</sup>	6,80 ± 3,52 <sup>b</sup>	3,20 ± 4,13 <sup>cd</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>e</sup>
	CA	0	4,47 ± 0,51 <sup>a</sup>	10,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>o</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>o</sup>
		0,5	1,70 ± 0,79 <sup>fh</sup>	3,30 ± 2,87 <sup>fghijkl</sup>	1,80 ± 1,03 <sup>klmno</sup>	3,80 ± 2,78 <sup>efghijk</sup>
		1	1,80 ± 0,71 <sup>fh</sup>	6,00 ± 2,71 <sup>cd</sup>	0,30 ± 0,48 <sup>no</sup>	2,70 ± 1,25 <sup>hijklm</sup>
		2	2,33 ± 1,32 <sup>de</sup>	3,20 ± 1,93 <sup>ghijklm</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>mno</sup>	5,80 ± 1,93 <sup>cde</sup>
		5	2,73 ± 1,08 <sup>cd</sup>	4,30 ± 3,49 <sup>defghi</sup>	3,40 ± 2,06 <sup>fghijkl</sup>	1,20 ± 1,93 <sup>lmno</sup>
		10	1,20 ± 0,40 <sup>g</sup>	3,90 ± 3,38 <sup>defghijk</sup>	4,10 ± 2,73 <sup>defghij</sup>	1,30 ± 0,48 <sup>lmno</sup>
		<i>Spunta</i>	Agar	0	1,93 ± 1,26 <sup>b</sup>	9,60 ± 0,51 <sup>a</sup>
4	1,43 ± 0,73 <sup>c</sup>			3,60 ± 3,50 <sup>cd</sup>	2,80 ± 2,53 <sup>cd</sup>	3,00 ± 4,83 <sup>cd</sup>
8	1,73 ± 0,78 <sup>bc</sup>			7,30 ± 0,48 <sup>b</sup>	1,40 ± 0,96 <sup>de</sup>	1,90 ± 2,18 <sup>cde</sup>
CA	0		2,93 ± 0,86 <sup>c</sup>	5,30 ± 2,86 <sup>cdefg</sup>	2,30 ± 0,48 <sup>ijklmno</sup>	1,80 ± 2,25 <sup>klmno</sup>
	0,5		1,57 ± 0,50 <sup>gh</sup>	5,40 ± 2,63 <sup>cdefg</sup>	1,90 ± 0,87 <sup>ijklmno</sup>	2,40 ± 1,71 <sup>hijklmno</sup>
	1		1,40 ± 0,62 <sup>gh</sup>	8,50 ± 1,35 <sup>ab</sup>	1,30 ± 1,25 <sup>lmno</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>o</sup>
	2		2,10 ± 0,54 <sup>ef</sup>	7,00 ± 2,70 <sup>bc</sup>	2,40 ± 2,63 <sup>hijklmno</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>o</sup>
	5		3,80 ± 1,30 <sup>b</sup>	5,40 ± 3,75 <sup>cdef</sup>	3,00 ± 3,56 <sup>hijklm</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>o</sup>
	10		2,37 ± 1,06 <sup>de</sup>	3,30 ± 2,87 <sup>fghijkl</sup>	1,70 ± 0,48 <sup>klmno</sup>	4,60 ± 2,50 <sup>defgh</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.

Les données exposées dans le tableau 14, montrent également que plus de cinq microtubercules par pot de la classe poids <0,5 g ont été produits au même niveau [1 g l<sup>-1</sup>] de CA pour les deux cultivars étudiés. Toutefois, les microtubercules les plus gros (≥1 g) ont été

produits sur le milieu MS semi-solide avec un taux statistiquement similaire (3 microtubercules par pot) entre les deux cultivars (*Désirée* et *Spunta*). Selon Zakaria et al. (2014), la classe la plus élevée (>300 mg) et la classe la plus basse (<150 mg) de microtubercules ont été produites dans un milieu MS contenant 40 meq K, 10 mg l<sup>-1</sup> BA et 9% de saccharose. Pour obtenir des microtubercules de plus grande taille, le milieu doit être complété par de la cytokinine et une concentration plus élevée de saccharose (Aslam et Iqbal, 2010). Ces observations sont en accord avec celles de Dhital et Lim (2012). Ces chercheurs ont souligné la possibilité de produire des microtubercules de plus grande taille (en moyenne >700 mg) et en plus grand nombre (en moyenne 1,6 par vitroplant) en utilisant le milieu MS/2 additionné de nutriments supplémentaires. Cependant, Hossain et al. (2017b) ont montré que la classe de microtubercules de 250-500 mg était la meilleure pour maximiser le rendement en microtubercules par rapport aux plantules. L'utilisation ultérieure des microtubercules est avantageuse, car ils sont plus faciles à stocker, à manipuler et ne nécessitent aucun traitement d'adaptation. Ils peuvent également être des plantules directes sur le terrain (Shin et al, 2018). D'après nos résultats obtenus, le charbon actif peut offrir une opportunité de rechercher le mécanisme de formation et de développement des microtubercules à l'avenir en utilisant le contrôle génétique par des analyses QTL de la structure tubéreuse.

Lors de la tubérisation *in vitro*, plusieurs microtubercules étaient sessiles et positionnés selon trois modes : au niveau de la pointe basale, de la pointe axillaire et de la pointe apicale (Pantelić et al, 2018). Bien que, il y avait multiforme de gonflement au niveau des pointes subapicales et axillaires par stolon (Sarkar et al, 2010) et aussi avec un trouble physiologique qui peut provoquer l'apparition d'un microtubercule secondaire au-dessus du premier, dans ce contexte Seabrook et al. (1993) confirment les résultats correspondants. Dans nos essais, plusieurs formes de microtubercules ont été observées (Figure 16A, B) : les formes ovales et rondes étaient les plus fréquentes dans tous les traitements de milieu de culture. Cette variation phénotypique chez les microtubercules a été déjà signalée par plusieurs chercheurs (Nhut et al, 2006; Hoque, 2010; Kämäräinen-Karppinen et al, 2010; Rahman et al, 2015) sur les milieux de culture liquides et semi-solides. Selon Borda et al, (2001), la couleur du périoderme des microtubercules diffère entre ceux incubés à la lumière et ceux produits dans l'obscurité totale. De même, dans notre traitement photopériodique adopté, le verdissement des microtubercules indique que la peau des microtubercules passe du blanc au vert (Figure 16). Cela s'explique par le phénomène de la photosynthèse, où la lumière joue un rôle essentiel dans l'expression de la chlorophylle (Wasserman et al, 2015; Li et al, 2020).



**Figure 16.** Aspect qualitatif des microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr : *Désirée* et Sp : *Spunta*) après 12 semaines de culture sur le milieu MS contenant différentes concentrations d'agar-agar (A) et de charbon actif CA (B). (bar=1cm).

## 2.5 Analyse de la relation entre les effets de l'agar-agar et du charbon actif (CA) sur les caractéristiques des microtubercules produits

Les paramètres étudiés, ont montré des corrélations négatives modérées entre le traitement agar-agar et le diamètre/poids des microtubercules (Tableau 15). L'analyse de ce tableau montre également une forte corrélation positive de l'agent solidifiant (agar-agar) avec le nombre de microtubercules ( $R=0,5015$ , valeurs  $p \leq 0,001$ ). Toutefois, nous avons mis en évidence une corrélation négative hautement significative entre le traitement CA et le nombre de microtubercules, tandis qu'avec le diamètre des microtubercules, aucune relation significative n'a été enregistrée. Le poids des microtubercules a corrélié considérablement par une signification positive ( $R=0,1450$ ,  $p$ -values  $\leq 0,010$ ) avec le traitement CA (Tableau 15).

**Tableau 15.** Corrélations entre les caractéristiques des microtubercules et les effets de l'agar-agar et de charbon actif (CA).

Paramètres		Coefficient de corrélation	P
<b>Nombre des microtubercules</b>	Agar	0,5015	***
	CA	- 0,1561	**
<b>Diamètre des microtubercules</b>	Agar	- 0,1642	*
	CA	0,0969	NS
<b>Poids des microtubercules</b>	Agar	- 0,1623	*
	CA	0,1450	**

NS non significatif

Valeurs p significatives pour la corrélation \*\*\*  $p \leq 0,001$ , \*\*  $p \leq 0,010$ , \*  $p \leq 0,050$ .

À notre connaissance, cette étude actuelle est considérée comme la première application du charbon actif dans la production de tubercules *in vitro* de haute qualité chez deux cultivars de pomme de terre intéressants sur le plan commercial (*Désirée* et *Spunta*). Sachant que Bizarri et al. (1995) ont testé une seule concentration de CA pour l'induction et le développement de microtubercules et que récemment, Buckseth et al. (2018) ont évalué l'influence de différents niveaux de CA uniquement sur les paramètres de croissance des vitroplants de pomme de terre.

### 3 Effet des phytohormones sur la production de microtubercules

#### 3.1 Effet des cytokinines (TDZ, *mT*, BAP)

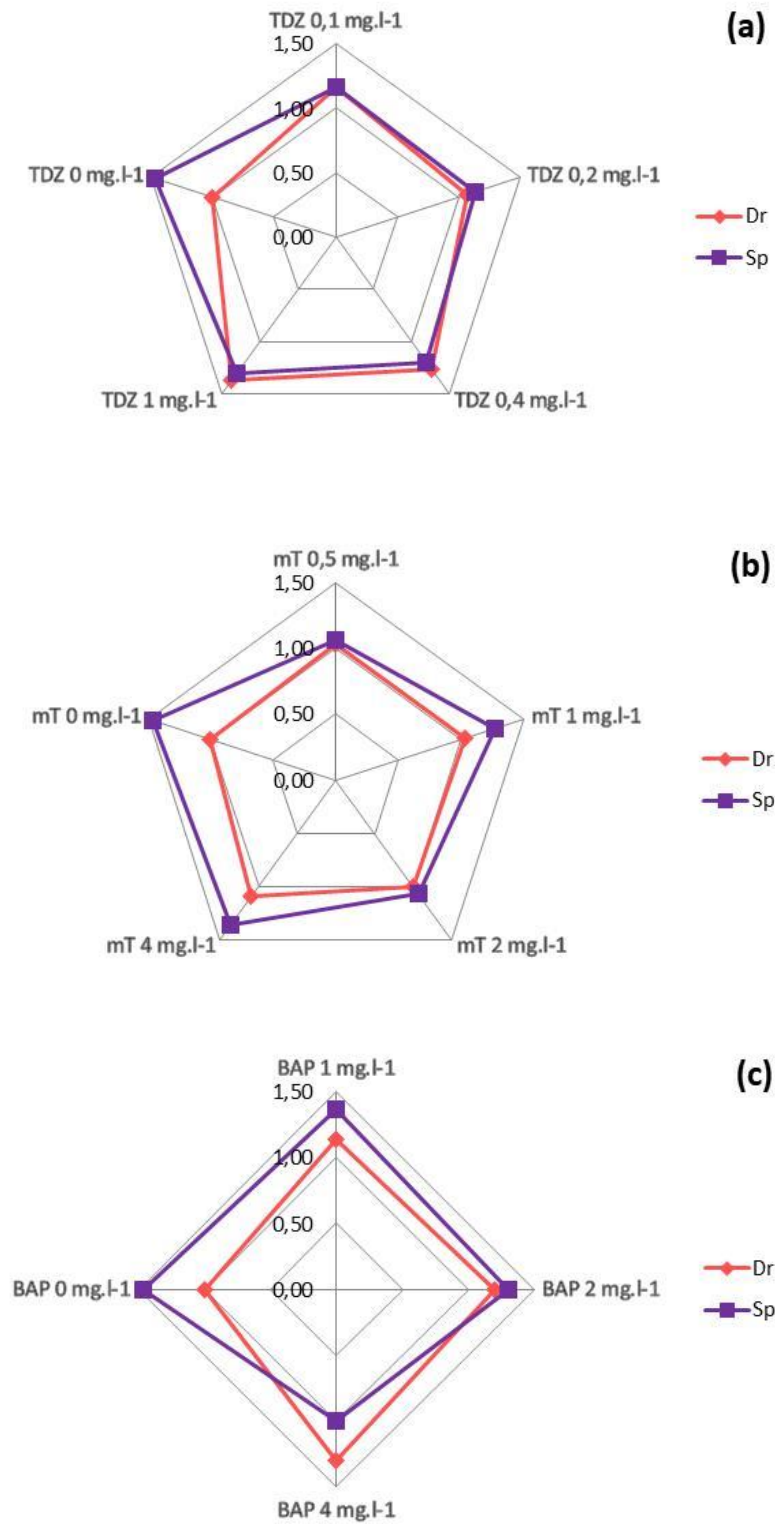
Afin de déterminer la cytokinine la plus efficace pour la production de microtubercules, des explants issus des deux cultivars testés ont été inoculés dans un milieu de microtubérisation additionné de Thidiazuron (TDZ), méta-Topoline (*mT*) et 6-Benzylaminopurine (BAP).

L'analyse de la figure 17 a montré l'effet de la nature de la cytokinine et sa concentration sur la microtubérisation. En effet, le TDZ à la dose de 1 mg l<sup>-1</sup> donne une production de 1,37 et 1,30 microtubercule par vitroplant, respectivement, chez le cv. *Désirée* (Dr) et le cv. *Spunta* (Sp) (Figure 17a). Un rendement de 1,10 et 1,37 microtubercules a été enregistré respectivement chez les vitroplants du cv. Dr et ceux du cv. Sp cultivés sur les milieux enrichis de 4 mg l<sup>-1</sup> de *mT*, (Figure 17b).

En présence de la BAP, le meilleur nombre de microtubercules obtenu par vitroplant a été enregistré avec la concentration de 1 mg l<sup>-1</sup> pour la variété *Spunta* et 4 mg l<sup>-1</sup> pour la variété *Désirée* (Figure 17c).

En générale, la production de microtubercules dans les milieux de culture contenant le TDZ, a été jugée supérieure comparativement à celle des autres traitements hormonaux testés (Figure 20). Par conséquent, le TDZ à la dose de 1 mg l<sup>-1</sup> a été retenu comme cytokinine et dose favorables à la production de microtubercules pour les deux cultivars étudiés, *Désirée* et *Spunta*.

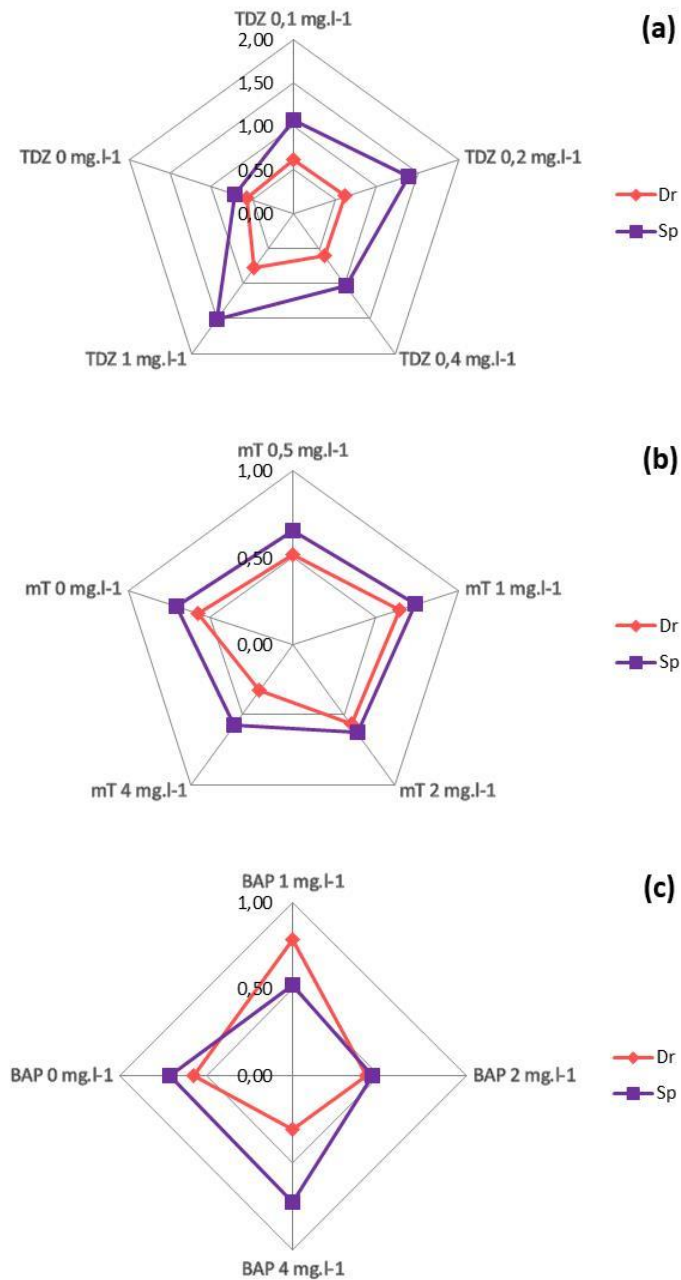
Les différences dans le diamètre des microtubercules sont encore un effet possible des régulateurs de croissance interagissant avec le génotype (Figure 20). Les phytohormones, TDZ et *mT*, n'ont pas eu d'effet significatif sur le cv. *Désirée* (Figure 18a,b). Pour le cv. *Spunta*, le diamètre des microtubercules produits a été significativement plus grand (1,51 cm) en présence du traitement TDZ à 1 mg l<sup>-1</sup> par rapport à celui des autres traitements et concentrations testées de *mT* et BAP. Le résultat obtenu avec le cv. *Désirée*, a été presque identique à celui enregistré chez les vitroplants de *Spunta* élevés sur le milieu additionné de BAP à 1 et 4 mg l<sup>-1</sup> respectivement (Figure 18c). Les rendements moyens enregistrés avec les cytokinines étaient supérieurs à ceux du témoin, bien que ces différences ne sont pas significatives chez les deux génotypes testés.



**Figure 17.** Effet de la cytokinine et sa concentration sur la production de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (*Dr. Désirée*, *Sp. Spunta*). **(a)** TDZ, **(b)** mT, **(c)** BAP.

Chaque valeur représente la moyenne de 30 réplicats par traitement. Les mesures ont été effectuées après 12 semaines de culture.

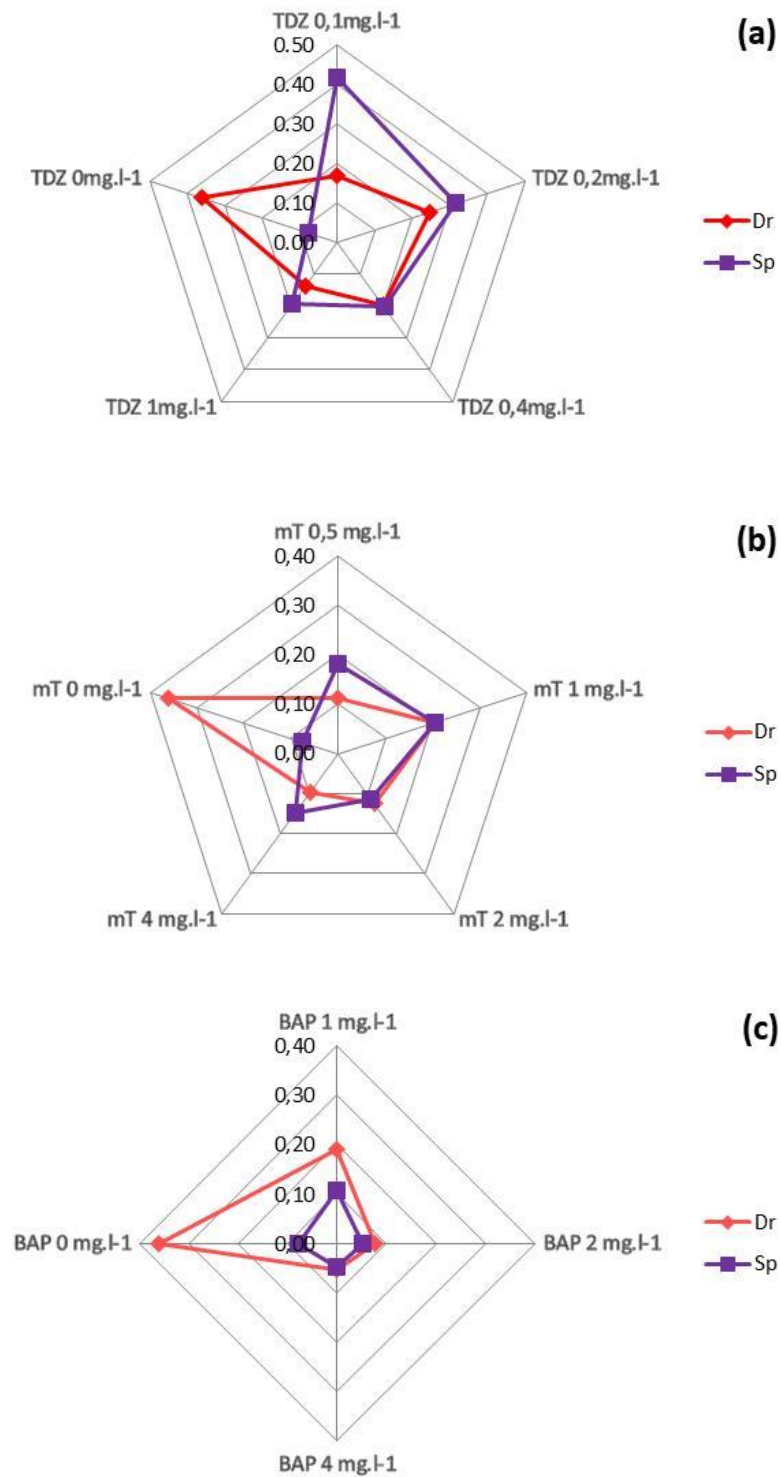




**Figure 18.** Effet de la cytokinine et sa concentration sur le diamètre des microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*). (a) TDZ, (b) mT, (c) BAP.

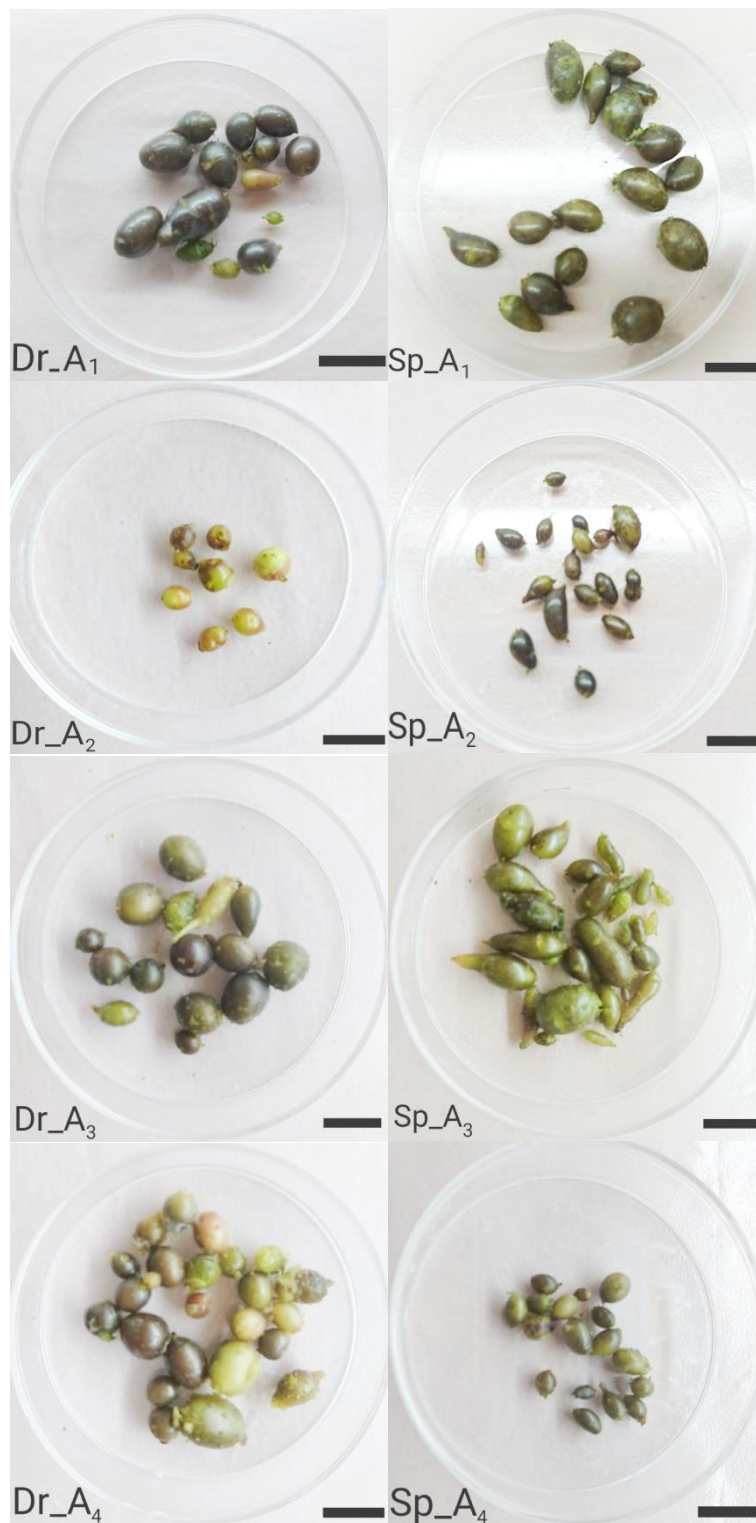
Chaque valeur représente la moyenne de 30 réplicats par traitement. Les mesures ont été enregistrées après 12 semaines de culture.

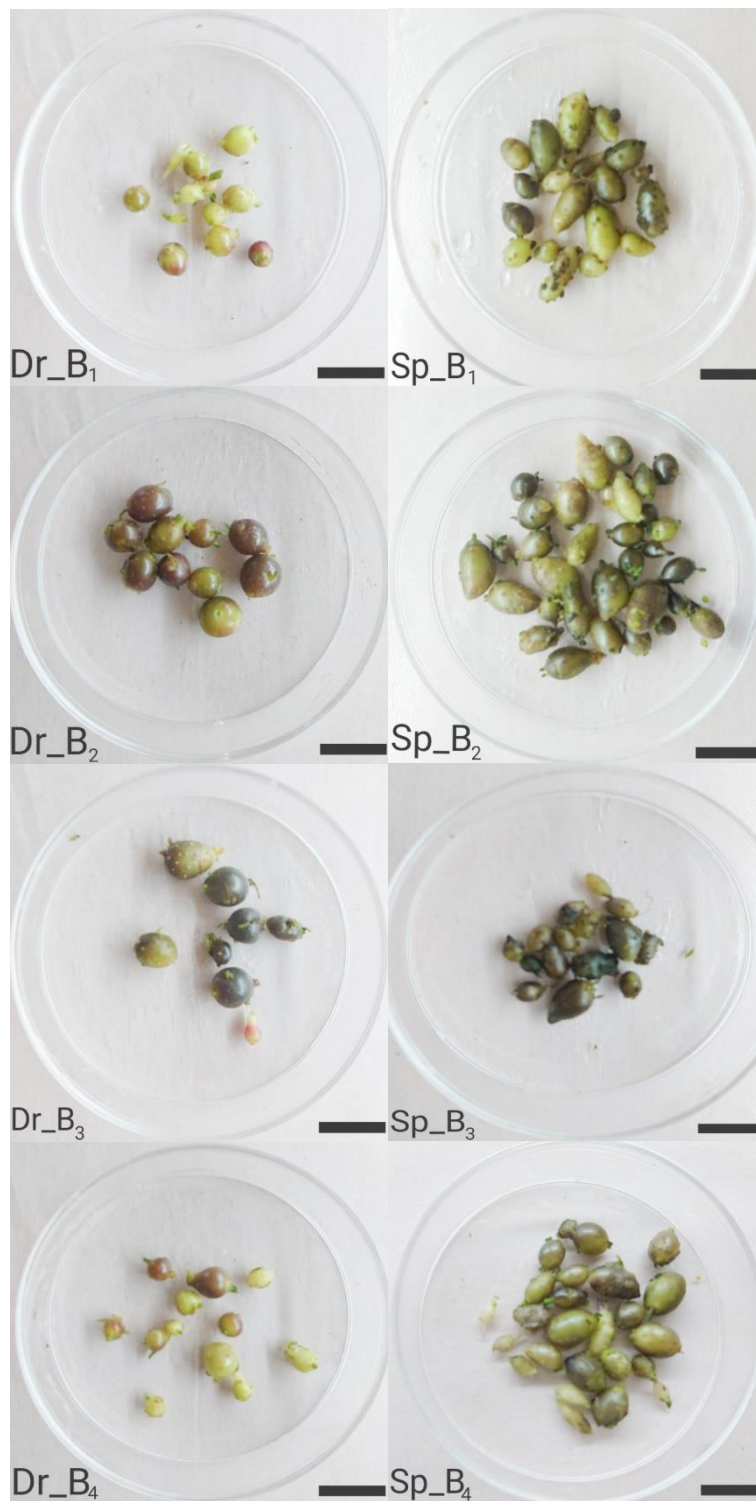
L'effet des cytokinines sur le poids des microtubercules dépend également du génotype. Dans le cas du cv. *Spunta*, un poids moyen de 0,42 g a été obtenu avec le traitement TDZ à la dose de 0,1 mg l<sup>-1</sup> (Figure 19a), alors qu'il diminue avec les deux autres cytokinines pour atteindre 0,20 et 0,11g respectivement avec mT et BAP à 1mg l<sup>-1</sup> (Figure 19b,c). Chez le cv. *Désirée*, le poids moyen des microtubercules lot témoin était de 0,36 g. Il est à signaler que les fortes doses testées de la BAP semblent être néfaste (Figure 20).

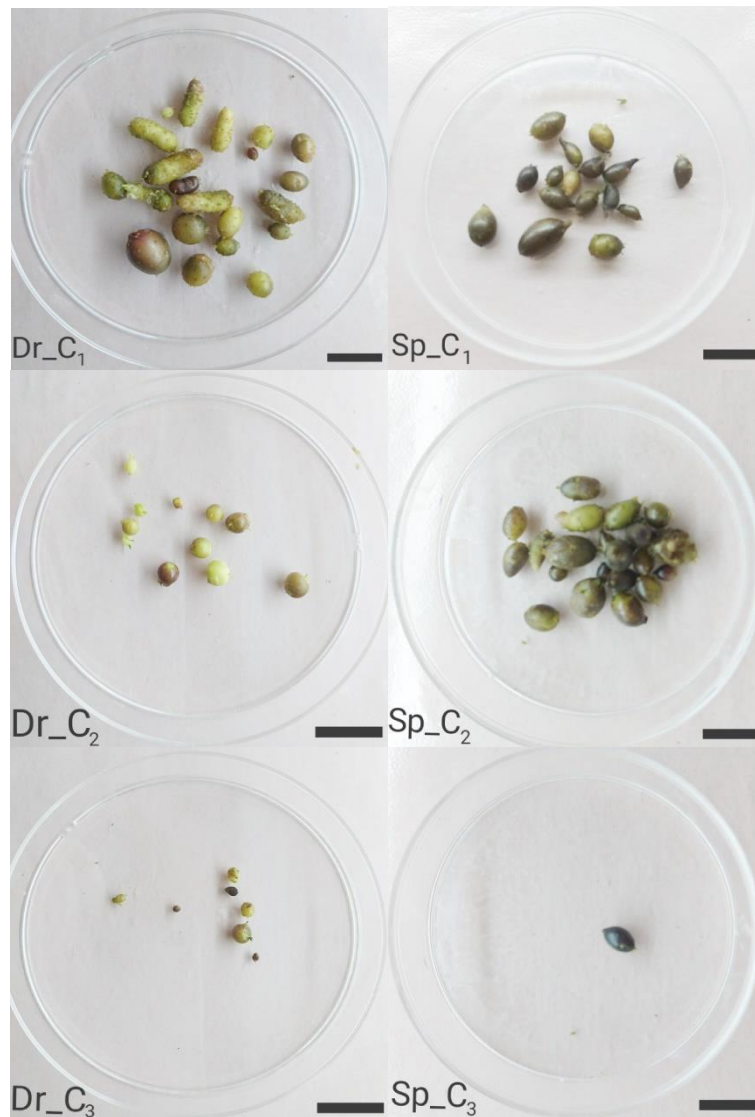


**Figure 19.** Effet de la cytokinine et sa concentration sur le poids des microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*). (a) TDZ, (b) mT, (c) BAP.

Chaque valeur représente la moyenne de 30 réplicats par traitement. Les mesures ont été enregistrées après 12 semaines de culture.







**Figure 20.** Aspect qualitatif des microtubercules produits chez deux cultivars de pomme de terre étudiés en fonction de la nature et la concentration des cytokinines testés après 12 semaines de culture.

(A) Rendement en microtubercules de chaque concentration de TDZ obtenues par bocal, (B) Rendement en microtubercules de chaque concentration de *mT* obtenues par bocal, (C) Rendement en microtubercules de chaque concentration de BAP obtenues par bocal. Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*, A<sub>1</sub> = 0,1 mg l<sup>-1</sup>, A<sub>2</sub> = 0,2 mg l<sup>-1</sup>, A<sub>3</sub> = 0,4 mg l<sup>-1</sup>, A<sub>4</sub> = 1 mg l<sup>-1</sup>; B<sub>1</sub> = 0,5 mg l<sup>-1</sup>, B<sub>2</sub> = 1 mg l<sup>-1</sup>, B<sub>3</sub> = 2 mg l<sup>-1</sup>, B<sub>4</sub> = 4 mg l<sup>-1</sup>; C<sub>1</sub> = 1 mg l<sup>-1</sup>, C<sub>2</sub> = 2 mg l<sup>-1</sup>, C<sub>3</sub> = 4 mg l<sup>-1</sup>, (bar=1cm).

Le développement d'un processus de microtubérisation reproductible et efficace est indispensable à la production optimale des microtubercules. La réussite du protocole dépend de plusieurs facteurs, notamment le génotype, le type d'explant, le milieu de culture et les conditions physiques (photopériode, qualité et intensité de la lumière), ainsi que le type et la concentration des régulateurs de croissance (PGRs) (Mamiya et al, 2020).

Parmi les différents PGRs, les cytokinines(CK) jouent un rôle capital dans l'organogénèse en déclenchant la division et la différenciation cellulaire (Magyar-Tabori et al, 2010). Le thidiazuron (TDZ) est un dérivé de l'urée, dépourvu d'un cycle purique, qui s'est avéré plus efficace que les cytokinines de type purique (Lu, 1993). Un effet significatif du thidiazuron sur l'organogénèse a été rapporté depuis plusieurs années pour de nombreuses plantes. Guo et al. (2011) ont découvert que le thidiazuron présente à la fois une forte activité de CK et d'auxine-cytokinine qui induit une morphogénèse efficace dans les cultures *in vitro*. Le TDZ a une activité intrinsèque de type CK qui inhibe l'action des cytokinines oxydases et il est moins sensible à la dégradation enzymatique par rapport aux autres CKs aminopurines et augmente ainsi le niveau endogène de CKs (Dewir et al, 2018). Par conséquent, il est rapporté qu'il stimule un taux plus élevé de prolifération des bourgeons de pousses par rapport aux autres CKs à une très faible concentration.

Dans notre expérience, nous avons aussi remarqué l'efficacité de TDZ à des faibles concentrations (0,1 et 0,2 mg l<sup>-1</sup>) sur la production des microtubercules de poids plus prononcé. À la dose de 1 mg l<sup>-1</sup>, le TDZ induit la formation de microtubercules de gros calibre.

À notre connaissance, nous avons utilisé pour la première fois la méta-Topoline (6-(3-hydroxybenzylamino) purine) pour la production des microtubercules. Parmi toutes les concentrations testées, 1 mg l<sup>-1</sup> de *mT* a montré une production de microtubercules de qualité en termes de calibre et de poids. La *mT* est un groupe de CKs aromatiques naturelles et un puissant substitut de la BAP (Aremu et al, 2012; Khanam et al, 2020). Elle se distingue de la BAP par la présence d'un groupe hydroxyle sur la chaîne latérale aromatique, ce qui permet l'accumulation des Oglycosides (Lalthafamkimi et al, 2020), qui peuvent facilement se convertir en bases libres actives et fournir des CKs sur une longue période dans la prolifération de nombreuses espèces végétales (Erisen et al, 2020; Vylícilova et al, 2020). Dans la littérature, la *mT* a été signalée comme étant très efficace pour le taux de multiplication par rapport à la BAP (Benmahioul et al, 2012b; Koszeghi et al, 2014; Kucharska et al, 2020). Elle a été utilisé chez plusieurs plantes pour améliorer la qualité des pousses, les troubles physiologiques et la stabilité histogénique (Dimitrova et al, 2016; Kucharska et al, 2020). De plus, la *mT* facilite également un enracinement et une acclimatation efficaces (Gentile et al, 2014; Khanam et al, 2020; Shekhawat et al, 2021).

Dans la plupart des études, la 6-benzylaminopurine (BAP) a été jugée la plus appropriée pour la prolifération de *S. tuberosum*. Cependant, nous avons observé précédemment que la BAP entraîne une hyperhydratation et Kaur et al. (2021) ont signalé même un retard de croissance des pousses. La BAP a été le régulateur de croissance le plus utilisé pour induire la tubérisation *in vitro* (Hossain et al, 2015; Naqvi et al, 2019). Nos résultats obtenus ont montré l'effet bénéfique de la *mT* et du TDZ et leur supériorité par rapport à la BAP.

L'utilisation de la BAP dans le milieu de culture de la production de microtubercules a diminué le taux de microtubérisation (Naqvi et al, 2019). C'est ce que nous avons constaté chez les deux cultivars étudiés. En effet, l'augmentation de la concentration de BAP dans le milieu de culture induit une diminution de la formation des microtubercules, ce qui a également été souligné par Hossain et al. (2015).

### 3.2 Effet combiné de TDZ/GA<sub>3</sub>

Afin d'optimiser le rendement et la qualité des microtubercules, des segments uninodaux ont été inoculés sur un milieu de culture de microtubérisation contenant deux combinaisons de TDZ/GA<sub>3</sub> (Tableau 16). Le meilleur rendement en microtubercules a été enregistré avec la combinaison [0,4 mg l<sup>-1</sup>] TDZ + [1 mg l<sup>-1</sup>] GA<sub>3</sub> chez le cv. *Spunta* (Figure 21). Le nombre de microtubercules diminue avec l'augmentation de la concentration en TDZ. Cette régression enregistrée est due probablement aux effets néfastes de la cytokinine utilisée au-delà de sa concentration optimale (Hussain et al, 2018). En ce qui concerne le calibre des microtubercules, le diamètre le plus élevé a été enregistré chez la variété *Désirée* cultivée en présence de la combinaison [0,4 mg l<sup>-1</sup>] TDZ + [1 mg l<sup>-1</sup>] GA<sub>3</sub>. Quant au meilleur poids enregistré a été observé constant chez la même variété *Désirée* et ce, pour les deux combinaisons testées.

**Tableau 16.** Effet combiné TDZ/GA<sub>3</sub> sur la production de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*).

Cytokinines (mg l <sup>-1</sup> )	[0,2] TDZ + [1] GA <sub>3</sub>		[0,4] TDZ + [1] GA <sub>3</sub>	
	cv. Dr	cv. Sp	cv. Dr	cv. Sp
Nombre des microtubercules	1,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,13 ± 0,35 <sup>ab</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
Diamètre des microtubercules (cm)	1,36 ± 0,62 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,47 <sup>b</sup>	1,56 ± 0,81 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,12 <sup>d</sup>
Poids des microtubercules (g)	0,14 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,09 <sup>c</sup>	0,15 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,01 ± 0,00 <sup>b</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les lignes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.

### 3.3 Effet combiné de TDZ/AIB

La combinaison hormonale TDZ/AIB a amélioré le rendement et la qualité des microtubercules, notamment chez le cv. *Désirée*. Parmi les deux concentrations testées pour l'induction de la microtubérisation, le milieu de culture contenant 0,4 mg l<sup>-1</sup> TDZ+0,01 mg l<sup>-1</sup> AIB a produit le nombre le plus élevé de microtubercules (1,27±0,78/vitroplant) chez le génotype *Désirée* (Tableau 17). Toutefois, en doublant la concentration de TDZ, un retard de microtubérisation et une production des microtubercules ressemblant à des graines de nigelle ont été distingués (Figure 21). La fidélité clonale est l'une des exigences fondamentales de la prolifération de nombreuses espèces végétales qui dépend principalement du génotype, de la nature de l'explant et des conditions de culture. Cependant, les altérations des concentrations en auxine-cytokinine, leur rapport, le stress *in vitro* dû à des conditions non naturelles, la durée de la culture *in vitro* et les conditions nutritionnelles pourraient également expliquer l'apparition de variations somaclonales (Osen et al, 2017).

**Tableau 17.** Effet combiné TDZ/AIB sur la production de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre (Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*).

Cytokinines (mg l <sup>-1</sup> )	[0,2] TDZ + [0,01] AIB		[0,4] TDZ + [0,01] AIB	
	cv. Dr	cv. Sp	cv. Dr	cv. Sp
Nombre des microtubercules	1,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	1,27 ± 0,78 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>b</sup>
Diamètre des microtubercules (cm)	0,40 ± 0,21 <sup>d</sup>	0,68 ± 0,25 <sup>bc</sup>	0,51 ± 0,21 <sup>c</sup>	0,38 ± 0,12 <sup>d</sup>
Poids des microtubercules (g)	0,07 ± 0,11 <sup>c</sup>	0,09 ± 0,05 <sup>c</sup>	0,07 ± 0,06 <sup>c</sup>	0,02 ± 0,01 <sup>b</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les lignes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.





**Figure 21.** Aspect qualitatif des microtubercules produits chez deux cultivars de pomme de terre (*Desirée* et *Spunta*) après 12 semaines de culture sur des milieux contenant différentes combinaisons hormonales.

(**A**) TDZ/GA<sub>3</sub> (0,2+1 mg l<sup>-1</sup>), (**B**) TDZ/GA<sub>3</sub> (0,4+1 mg l<sup>-1</sup>), (**C**) TDZ/AIB (0,2+0,01 mg l<sup>-1</sup>) et (**D**) TDZ/AIB (0,4+0,01 mg l<sup>-1</sup>) Dr. *Desirée*, Sp. *Spunta*, (bar = 1cm).

Les cytokinines (CKs) sont des régulateurs de croissance qui favorisent le développement de tubercules de la pomme de terre et le développement de la plante. En outre, les CKs participent à la défense des plantes contre les facteurs défavorables biotiques et abiotiques (Brütting et al, 2017). Tout ce qui précède indique le rôle important des cytokinines à la fois dans l'induction de la microtubérisation et dans la morphogenèse des microtubercules de pomme de terre (Arkhipov et al, 2019).

L'application exogène de cytokinines, favorise l'initiation de la microtubérisation et la croissance de la pomme de terre. Le TDZ a été utilisé comme CK dans l'étude et son effet bénéfique a été approuvé par l'amélioration du rendement et la qualité des microtubercules (Figure 21).

La CK, l'AG<sub>3</sub> et l'auxine stimulent l'élongation cellulaire pendant la croissance végétative des organes axiaux et retarde la croissance des tubercules matures (Saidi et Hajibarat, 2021). Des études expérimentales (Koda et Okazawa, 1983; Saidi et Hajibarat, 2021) ont révélé que l'acide gibbérellique GA<sub>3</sub> agit comme un inhibiteur de la tubérisation chez la pomme de terre. L'accumulation de certaines substances est contrôlée par des phytohormones. A titre d'exemple, l'AIB et l'auxine renforcent l'état de dormance alors que la CK et l'AG<sub>3</sub> accélèrent la germination. Toutefois, l'AG<sub>3</sub> inhibe l'accumulation de patatine, un marqueur des événements biochimiques liés au processus de tubérisation (Saidi et Hajibarat, 2021).

L'auxine joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes en favorisant la division cellulaire (prolifération), la croissance cellulaire (expansion, élongation) et la différenciation cellulaire. Parmi les différentes auxines, l'AIB est le plus efficace pour l'enracinement *in vitro* (Kaur et al, 2021). Il est connu que l'auxine déclenche de nombreux gènes et améliore les activités enzymatiques qui modulent plusieurs voies du métabolisme des glucides, des protéines, de l'azote et des polyphénols qui conduisent l'induction des racines chez les plantes (Bhardwaj et al, 2018). Dans notre étude, l'AIB (0,01 mg l<sup>-1</sup>) en conjonction avec les deux concentrations de TDZ, a donné des microtubercules variés. La combinaison (0,01 mg l<sup>-1</sup> AIB + 0,4 mg l<sup>-1</sup> TDZ) s'est révélée idéale pour la production de microtubercules de pomme de terre.

## 4 Effet de la source carbonée sur le développement des vitroplants et des microtubercules

### 4.1 Effet du mannitol

Les explants des deux cultivars étudiés ont survécu sur toutes les concentrations de mannitol testées, mais ils ont été affectés négativement. Comparativement au témoin, tous les paramètres d'appréciation (longueur des pousses, longueur de la racine et le nombre de feuilles) ont réduits en présence du mannitol (Tableau 18).

**Tableau 18.** Variation de la longueur de la racine, la longueur des pousses et le nombre de feuilles des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*) après 12 semaines de culture sur différentes concentrations de mannitol

Concentration en Mannitol [g l <sup>-1</sup> ]	Longueur de la racine (cm)		Longueur des pousses (cm)		Nombre de feuilles	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	4,33±1,39 <sup>b</sup>	5,80±1,85 <sup>a</sup>	5,97±1,69 <sup>b</sup>	10,04±3,58 <sup>a</sup>	6,10±1,95 <sup>b</sup>	7,90±2,83 <sup>a</sup>
30	2,07 ± 1,13 <sup>d</sup>	3,18±1,35 <sup>c</sup>	3,53±1,03 <sup>g</sup>	3,00±0,72 <sup>deg</sup>	2,83±0,91 <sup>fgh</sup>	3,20±1,75 <sup>df</sup>
60	0,90 ± 0,68 <sup>e</sup>	3,00±0,83 <sup>c</sup>	3,62±1,26 <sup>g</sup>	1,30±0,77 <sup>c</sup>	2,17±0,95 <sup>ehi</sup>	2,37±0,93 <sup>ghi</sup>
80	1,83±0,63 <sup>d</sup>	1,70±1,05 <sup>d</sup>	3,15±1,10 <sup>dg</sup>	2,04±1,13 <sup>cf</sup>	2,00±0,83 <sup>ei</sup>	1,50±0,51 <sup>e</sup>
120	1,09±0,27 <sup>e</sup>	0,66±0,29 <sup>e</sup>	2,52±1,59 <sup>def</sup>	2,23±0,92 <sup>ef</sup>	2,57±0,73 <sup>fghi</sup>	4,40±1,94 <sup>c</sup>
160	0,60±0,42 <sup>e</sup>	0,75±0,25 <sup>e</sup>	3,26±2,02 <sup>dg</sup>	2,15±0,91 <sup>ef</sup>	3,80±0,76 <sup>cd</sup>	3,00±1,58 <sup>fg</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité. Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*.

En présence du mannitol, la meilleure production de microtubercules a été enregistrée avec les doses de 60 et 160 g l<sup>-1</sup>. Avec la concentration de 80 g l<sup>-1</sup>, le cv. *Désirée* a produit plus de microtubercules (2,33 ± 0,96) comparativement aux autres lots expérimentaux. *Spunta* a produit significativement des microtubercules de gros calibre par rapport au cv. *Désirée* et ce sur toutes les concentrations de mannitol testées. Les poids frais des microtubercules ont également varié de manière significative entre les deux génotypes étudiés (Tableau 19). Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les doses de 120 et 160 g l<sup>-1</sup>, chez le cv. *Désirée* et le cv. *Spunta* respectivement. Le poids frais de microtubercules le plus élevé (1,18±1,42 g) a été enregistré avec le lot témoin de la variété *Spunta* (Tableau 19).

**Tableau 19.** Effet de la concentration en mannitol sur la production *in vitro* de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Concentration en Mannitol [g l <sup>-1</sup> ]	Nombre de microtubercules		Diamètre de microtubercules (cm)		Poids de microtubercules (g)	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	1,70±0,75 <sup>b</sup>	1,43±0,73 <sup>d</sup>	1,64±0,43 <sup>a</sup>	1,36±0,78 <sup>c</sup>	0,87±0,62 <sup>b</sup>	1,18±1,42 <sup>a</sup>
30	1,00±0,00 <sup>e</sup>	1,40±0,50 <sup>d</sup>	0,04±0,00 <sup>b</sup>	0,32±0,41 <sup>e</sup>	0,40±0,00 <sup>cd</sup>	0,14±0,14 <sup>e</sup>
60	1,40±0,50 <sup>d</sup>	2,00±0,00 <sup>c</sup>	0,32±0,41 <sup>e</sup>	0,90±0,16 <sup>d</sup>	0,14±0,14 <sup>e</sup>	0,11±0,04 <sup>e</sup>
80	2,33±0,96 <sup>a</sup>	1,20±0,41 <sup>de</sup>	0,48±0,35 <sup>e</sup>	0,90±0,32 <sup>d</sup>	0,19±0,16 <sup>de</sup>	0,14±0,11 <sup>e</sup>
120	1,00±0,00 <sup>e</sup>	1,00±0,00 <sup>e</sup>	0,34±0,00 <sup>e</sup>	0,50±0,00 <sup>e</sup>	0,90±0,00 <sup>b</sup>	0,01±0,00 <sup>e</sup>
160	2,00±0,00 <sup>c</sup>	1,77±0,43 <sup>bc</sup>	0,42±0,27 <sup>e</sup>	1,38±0,60 <sup>c</sup>	0,05±0,03 <sup>e</sup>	0,63±0,15 <sup>c</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité. Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*.

#### 4.2 Effet du sorbitol

Les traitements avec le sorbitol n'ont produit aucune mortalité et aucune anomalie pour les deux génotypes étudiés (Tableau 20). Les meilleurs résultats ont été enregistrés avec les doses de 0 et 30 g l<sup>-1</sup>. Au-delà de cette concentration de 30 g l<sup>-1</sup>, tous les variables étudiés de la tubérisation (la longueur de la racine, la longueur des pousses et le nombre de feuilles) ont diminués.

**Tableau 20.** Variation de la longueur de la racine, la longueur des pousses et le nombre de feuilles des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*) après 12 semaines de culture sur différentes concentrations en sorbitol.

Concentration en Sorbitol [g l <sup>-1</sup> ]	Longueur de la racine (cm)		Longueur des pousses (cm)		Nombre de feuilles	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	4,33±1,39 <sup>b</sup>	5,80±1,85 <sup>a</sup>	5,97±1,69 <sup>de</sup>	10,04±3,58 <sup>a</sup>	6,10±1,95 <sup>c</sup>	7,90±2,83 <sup>b</sup>
30	5,26±2,76 <sup>a</sup>	3,68±2,58 <sup>b</sup>	5,67±1,54 <sup>de</sup>	10,77±7,87 <sup>a</sup>	3,70±2,05 <sup>d</sup>	9,93±6,80 <sup>a</sup>
60	1,70±1,26 <sup>e</sup>	0,85±0,42 <sup>d</sup>	4,29±2,97 <sup>ce</sup>	0,93±0,76 <sup>b</sup>	3,40±1,52 <sup>de</sup>	2,30±1,51 <sup>ef</sup>
80	1,98±1,08 <sup>e</sup>	1,85±1,00 <sup>e</sup>	4,85±1,40 <sup>cde</sup>	4,85±1,30 <sup>cde</sup>	2,17±0,91 <sup>ef</sup>	2,10±0,88 <sup>ef</sup>
120	2,21±1,05 <sup>ce</sup>	0,71±0,47 <sup>d</sup>	3,38±1,60 <sup>c</sup>	1,38±1,17 <sup>b</sup>	2,33±1,52 <sup>ef</sup>	1,77±0,68 <sup>f</sup>
160	0,68±0,48 <sup>d</sup>	2,87±2,05 <sup>c</sup>	1,36±1,18 <sup>b</sup>	6,67±5,37 <sup>d</sup>	1,77±0,68 <sup>f</sup>	2,83±0,70 <sup>def</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité. Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*.

Le milieu de culture additionné de 30 g l<sup>-1</sup> de sorbitol affiche le meilleur développement de microtubercules (2,07 ± 1,01) chez *Spunta*. Toutefois, aucune différence significative n'a été enregistrée entre les deux cultivars étudiés pour le nombre de microtubercules. Pour les autres variables de la tubérisation (diamètre et poids de microtubercules), le milieu de culture témoin (sans sorbitol) donne les meilleurs résultats (Tableau 21).

**Tableau 21.** Effet de la concentration en sorbitol sur la production *in vitro* de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Concentration en Sorbitol [g l <sup>-1</sup> ]	Nombre de microtubercules		Diamètre de microtubercules (cm)		Poids de microtubercules (g)	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	1,70±0,75 <sup>b</sup>	1,43±0,73 <sup>bd</sup>	1,64±0,43 <sup>a</sup>	1,36±0,78 <sup>b</sup>	0,87±0,62 <sup>b</sup>	1,18±1,42 <sup>a</sup>
30	1,27±0,45 <sup>cd</sup>	2,07±1,01 <sup>a</sup>	0,32±0,11 <sup>g</sup>	0,27±0,17 <sup>g</sup>	0,02±0,02 <sup>e</sup>	0,04±0,03 <sup>e</sup>
60	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,27±0,45 <sup>cd</sup>	0,06±0,04 <sup>c</sup>	0,84±0,68 <sup>d</sup>	0,25±0,05 <sup>de</sup>	0,45±0,41 <sup>cd</sup>
80	1,33±0,48 <sup>d</sup>	1,50±0,51 <sup>bd</sup>	0,38±0,13 <sup>g</sup>	0,63±0,55 <sup>ef</sup>	0,11±0,20 <sup>e</sup>	0,21±0,16 <sup>de</sup>
120	1,50±0,78 <sup>bd</sup>	1,00±0,00 <sup>c</sup>	0,70±0,08 <sup>de</sup>	0,33±0,22 <sup>g</sup>	0,60±0,28 <sup>c</sup>	0,05±0,03 <sup>e</sup>
160	1,00±0,00 <sup>c</sup>	1,67±0,48 <sup>b</sup>	0,33±0,22 <sup>g</sup>	0,45±0,23 <sup>fg</sup>	0,05±0,03 <sup>e</sup>	0,18±0,17 <sup>e</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité. Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*.

La présence de sucre dans le milieu de culture est obligatoire. Les hydrates de carbone constituent des sources d'énergie très importantes pour les explants qui ne sont pas autotrophes *in vitro*, surtout au stade de l'initiation (Cheong et Chanhon, 2015). Les besoins en hydrates de carbone peuvent varier considérablement entre les espèces et les explants, en fonction de leur capacité à absorber et à métaboliser les molécules de la source de carbone spécifique (Mezzetti et al, 1991).

En raison de son absorption efficace à travers la membrane plasmique, le saccharose est considéré comme le meilleur hydrate de carbone pour la propagation *in vitro* de la plupart des plantes (Aragão et al, 2016). Le saccharose s'est avéré être l'hydrate de carbone le plus puissant pour développer les pousses, tandis que le fructose était beaucoup moins efficace pour l'induction et la croissance des pousses, comparé au saccharose ou au glucose (Stojicic et al, 2022).

Le sorbitol sert de photosynthèse primaire et de substance de translocation et de stockage dans les plantes (Singh et al, 2015). Lemos et Baker (1998) ont montré que le sorbitol induit l'initiation de pousses et la formation de cals sur des explants internodaux, mais pas le mannitol. Ces auteurs ont suggéré que les rôles du sorbitol peuvent aller au-delà de ceux d'une source de C ou d'un agent osmotique d'une source de C ou d'un régulateur osmotique. Il a été suggéré que le sorbitol pourra modifier les processus moléculaires et physiologiques par l'intermédiaire de signalisation chimique, plutôt que par son rôle de source de C ou de régulateur osmotique (Feng et al, 2011).

Dans notre expérimentation, la substitution du saccharose par le mannitol ou le sorbitol a induit une réduction de la croissance chez les deux cultivars de la pomme de terre. La réduction est encore plus grande avec les différents niveaux de ces deux sources de carbone testées.

## 5 Effet des stress abiotiques sur la tolérance de la pomme de terre

### 5.1 Effet de la contrainte saline

#### 5.1.1 Effet de NaCl sur le développement des vitroplants

Une différence morphologique et une détérioration relative ont été observées en présence de toutes les concentrations de sel appliquées (Figure 22). Les vitroplants des deux génotypes étudiés ont été significativement affectés par le sel. La présence de NaCl dans le milieu de culture entraîne, après 90 jours de culture, une diminution significative de la longueur des pousses et des racines ainsi que la production de feuilles par vitroplant (Tableau 22). Cette réduction varie avec la concentration du sel dans le milieu de culture. A la fin de l'essai, la longueur moyenne des pousses la plus élevée ( $10,04 \pm 3,58$  cm) a été enregistrée avec le lot témoin du cv. *Spunta* alors que la plus faible ( $1,25 \pm 0,69$  cm) a été obtenue avec la même variété cultivée en présence de la dose de  $10 \text{ g l}^{-1}$ .

Chez les deux génotypes étudiés, la longueur des racines a été affectée négativement par le sel. La longueur de racines la plus étendue (5,8 cm) a été mesurée chez *Spunta* (lot témoin) alors qu'au-delà de  $5 \text{ g l}^{-1}$  de NaCl aucune racine ne s'est formée.

La diminution de la croissance de l'appareil végétatif est accompagnée d'une réduction de l'organogenèse foliaire. En effet, le nombre moyen de feuilles par vitroplant varie entre 7,9 et 6,1 pour les témoins respectivement de *Spunta* et *Désirée* et environ 2,5 feuilles par vitroplant cultivé en présence de la concentration la plus élevée (Tableau 22).

**Tableau 22.** Effet de la concentration en NaCl sur la croissance des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*

Concentration en NaCl [g l <sup>-1</sup> ]	Longueur de la racine (cm)		Longueur des pousses (cm)		Nombre de feuilles	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	4,33±1,39 <sup>b</sup>	5,80±1,85 <sup>a</sup>	5,97±1,69 <sup>b</sup>	10,04±3,58 <sup>a</sup>	6,10±1,95 <sup>b</sup>	7,90±2,83 <sup>a</sup>
5	1,33±1,18 <sup>d</sup>	1,26±0,69 <sup>d</sup>	3,30±1,29 <sup>de</sup>	2,07±1,05 <sup>cf</sup>	3,67±0,48 <sup>c</sup>	1,00±0,83 <sup>d</sup>
10	0,07±0,17 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	3,05±1,20 <sup>de</sup>	1,25±0,69 <sup>f</sup>	1,00±0,83 <sup>d</sup>	2,60±1,13 <sup>e</sup>
15	0,68±0,38 <sup>c</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	3,78±1,84 <sup>d</sup>	1,37±0,75 <sup>f</sup>	2,50±0,51 <sup>e</sup>	2,40±1,30 <sup>e</sup>
20	1,00±0,44 <sup>cd</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	2,87±0,86 <sup>ce</sup>	1,35±0,82 <sup>f</sup>	2,50±0,51 <sup>e</sup>	2,77±1,87 <sup>e</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.

### 5.1.2 Effet de NaCl sur la microtubérisation

A l'exception des deux doses salines (10 et 15 g l<sup>-1</sup>) qui affichent des rendements élevés de microtubercules chez le cv. *Désirée*, les autres concentrations de NaCl affectent négativement la tubérisation *in vitro* de la pomme de terre (Tableau 23).

L'initiation de la microtubérisation a été retardée jusqu'à 2-3 semaines en présence des concentrations salines plus élevées. Le milieu MS contenant diverses concentrations de NaCl a provoqué la formation de microtubercules en haltère de faible taille et poids chez les deux cultivars testés (Figure 22).

Les concentrations les plus élevées en NaCl ont inhibé la formation de microtubercules et la croissance des stolons chez *Spunta*. Cependant, les microtubercules les plus petites ont été observés chez le cv. *Désirée* sur le milieu contenant 15 g l<sup>-1</sup> de NaCl.

**Tableau 23.** Effet de la concentration en NaCl sur la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Concentration en NaCl [g l <sup>-1</sup> ]	Nombre de microtubercules		Diamètre de microtubercules (cm)		Poids de microtubercules (g)	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	1,70±0,75 <sup>a</sup>	1,43±0,73 <sup>c</sup>	1,64±0,43 <sup>a</sup>	1,36±0,78 <sup>b</sup>	0,87±0,62 <sup>b</sup>	1,18±1,42 <sup>a</sup>
5	1,23±0,43 <sup>cd</sup>	1,00±0,00 <sup>d</sup>	0,45±0,14 <sup>f</sup>	0,50±0,30 <sup>ef</sup>	0,04±0,04 <sup>c</sup>	0,19±0,22 <sup>c</sup>
10	2,00±0,83 <sup>b</sup>	1,00±0,00 <sup>d</sup>	0,87±0,27 <sup>d</sup>	0,87±0,27 <sup>d</sup>	0,32±0,32 <sup>c</sup>	0,32±0,32 <sup>c</sup>
15	2,00±0,00 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,26±0,20 <sup>c</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,67 ± 0,33 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>
20	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>e</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.



**Figure 22.** Aspects morphologiques des vitroplants de *Solanum tuberosum* L. soumis au stress salin. (Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*).

Nos données sont cohérentes avec les études rapportant que l'augmentation des concentrations de sel affecte négativement la longueur des plants et le développement de la pomme de terre (Zaman et al, 2015). Zhang et Donnelly (1997) ont également constaté une faible croissance et un faible développement de la pomme de terre à 75 mM NaCl. De même, Rahman et al. (2008) ont signalé une diminution de la longueur des pousses à 75 et 100 mM de NaCl. Aghaei et al, (2009) ont rapporté que la pomme de terre est modérément tolérante au stress salin et que toutes les variétés testées présentent une croissance globalement retardée et un faible nombre de feuilles. Chez les explants soumis au stress salin, la formation de folioles a été retardée de 2 à 3 semaines à des concentrations de sel plus élevées. En général, le nombre de folioles de toutes les variétés ont été réprimés à des niveaux élevés de NaCl. La réduction de la taille et le nombre de folioles sous la contrainte saline est probablement due à la pression osmotique élevée au cours de la multiplication.

Amerian et Esna-Ashari (2011) ont signalé une nette diminution de la production de microtubercules avec l'augmentation de la concentration en sel pour toutes les variétés testées. L'effet de NaCl sur la fréquence de microtubérisation, le nombre et la masse des microtubercules obtenus dépendent du génotype. La tubérisation *in vitro* de *Désirée* est meilleure et tolérante comparativement à *Spunta*. *Désirée* a eu la meilleure capacité de microtubérisation par rapport à *Spunta* dans le contrôle et en présence de toutes les concentrations salines testées.



Le sel diminue la microtubérisation par la réduction de l'assimilation de l'eau et du CO<sub>2</sub>, le déséquilibre osmotique et les défauts nutritionnels des plantes (Chinnusamy et Zhu, 2003). Le stress osmotique réduit également le pouvoir de rendement de l'eau et la salinité a des effets suppressifs sur la croissance, le développement et la microtubérisation de la pomme de terre dans des conditions *in vitro* (Ahmed et al, 2020).

## 5.2 Effet du stress hydrique

### 5.2.1 Effet de la concentration en PEG 6000 sur la croissance des vitroplants

Le déficit hydrique ralentit la croissance *in vitro* des plantes de la pomme de terre. Il a affecté la croissance et le développement des deux cultivars étudiés.

L'analyse du tableau 24 montre un effet très marqué du stress hydrique sur la croissance des vitroplants de pomme de terre. En effet, la réduction des différents paramètres de croissance étudiés par rapport au témoin, est importante pour la longueur des pousses, le nombre de feuilles et la longueur racinaire.

**Tableau 24.** Effet de la concentration en PEG 6000 sur la croissance des vitroplants de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Concentration en PEG6000 [g l <sup>-1</sup> ]	Longueur de la racine (cm)		Longueur des pousses (cm)		Nombre de feuilles	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	4,33 ± 1,39 <sup>b</sup>	5,80 ± 1,85 <sup>a</sup>	5,97 ± 1,68 <sup>b</sup>	10,04 ± 3,58 <sup>a</sup>	6,10±1,95 <sup>b</sup>	7,90 ± 2,83 <sup>a</sup>
5	2,25 ± 0,96 <sup>d</sup>	2,70± 1,11 <sup>d</sup>	3,83 ± 1,77 <sup>c</sup>	1,65 ± 0,78 <sup>g</sup>	2,07±0,78 <sup>ef</sup>	6,80 ± 6,41 <sup>ab</sup>
10	1,53 ± 0,74 <sup>e</sup>	1,00 ± 0,54 <sup>fgh</sup>	2,98 ± 1,87 <sup>cde</sup>	2,75 ± 1,36 <sup>def</sup>	1,50±0,50 <sup>f</sup>	3,97 ± 4,95 <sup>c</sup>
15	0,87 ± 0,67 <sup>gh</sup>	1,43 ± 1,09 <sup>ef</sup>	2,81± 2,39 <sup>def</sup>	2,76 ± 1,60 <sup>def</sup>	1,73±0,82 <sup>f</sup>	3,50± 0,50 <sup>cde</sup>
20	0,57 ± 0,37 <sup>h</sup>	1,35 ± 0,90 <sup>efg</sup>	1,90 ± 1,075 <sup>fg</sup>	2,33 ± 0,89 <sup>defg</sup>	2,27±0,94 <sup>def</sup>	2,54± 1,28 <sup>cdef</sup>
25	0,92 ± 1,19 <sup>fgh</sup>	0,86 ± 0,34 <sup>gh</sup>	2,00 ± 1,34 <sup>efg</sup>	2,01 ± 0,94 <sup>efg</sup>	2,00±0,83 <sup>f</sup>	2,63± 1,86 <sup>cdef</sup>
30	3,25 ± 0,25 <sup>c</sup>	0,50 ± 0,00 <sup>h</sup>	3,16 ± 1,33 <sup>cd</sup>	1,91 ± 0,64 <sup>fg</sup>	3,00±0,83 <sup>cdef</sup>	3,70± 1,70 <sup>cd</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la même lettre dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.

### 5.2.2 Effet de la concentration en PEG 6000 sur la production de microtubercules

La tubérisation *in vitro* chez les deux cultivars de pomme de terre étudiés a été affectée par la concentration de PEG-6000 (Figure 23). Le potentiel hydrique des milieux testés a influencé significativement les différents paramètres de la microtubérisation. A l'exception de la concentration de 10 g l<sup>-1</sup> (paramètre : nombre de microtubercules ; cv. *Désirée*), les meilleurs résultats ont été enregistrés avec les lots témoins (Tableau 25).

**Tableau 25.** Effet de la concentration en PEG 6000 sur la microtubérisation de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Concentration en PEG6000 [g l <sup>-1</sup> ]	Nombre de microtubercules		Diamètre de microtubercules (cm)		Poids de microtubercules (g)	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
0	1,70±0,75 <sup>ab</sup>	1,43±0,72 <sup>bcd</sup>	1,64±0,42 <sup>a</sup>	1,35±0,78 <sup>b</sup>	0,86±0,62 <sup>b</sup>	1,17 ± 1,42 <sup>a</sup>
5	1,40±0,49 <sup>cd</sup>	1,00±0,00 <sup>e</sup>	0,33±0,09 <sup>cde</sup>	0,42±0,04 <sup>cd</sup>	0,02±0,00 <sup>d</sup>	0,02±0,00 <sup>d</sup>
10	1,80±1,12 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>e</sup>	0,39 ±0,14 <sup>de</sup>	0,38±0,10 <sup>cde</sup>	0,03±0,02 <sup>d</sup>	0,02±0,00 <sup>d</sup>
15	1,23±0,43 <sup>de</sup>	0,23±0,43 <sup>f</sup>	0,31±0,095 <sup>cde</sup>	0,20±0,00 <sup>e</sup>	0,02±0,01 <sup>d</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>
20	1,5±0,50 <sup>bcd</sup>	1,00±0,00 <sup>e</sup>	0,40±0,069 <sup>cde</sup>	0,37±0,04 <sup>cde</sup>	0,04±0,02 <sup>d</sup>	0,01±0,00 <sup>d</sup>
25	0,00±0,00 <sup>f</sup>	1,00±0,00 <sup>e</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	0,28±0,11 <sup>de</sup>	0,00±0,00 <sup>d</sup>	0,01±0,01 <sup>d</sup>
30	1,67±0,47 <sup>abc</sup>	1,00±0,00 <sup>e</sup>	0,32±0,21 <sup>de</sup>	1,34±0,91 <sup>b</sup>	0,04±0,02 <sup>d</sup>	0,41 ± 0,39 <sup>b</sup>

Les moyennes qui ont été séparées par le test DMRT avec la lettre type dans les colonnes ne sont pas significativement différentes à 5 % de probabilité.



**Figure 23.** Aspects morphologiques des vitroplants de *Solanum tuberosum* L. soumis au stress salin. (Dr. *Désirée*, Sp. *Spunta*).

Chez *S. tuberosum* cultivé *in vitro*, le déficit hydrique provoqué par PEG 6000 a induit une réduction du taux de photosynthèse. Cette réponse pourra être causée par une diffusion limitée du CO<sub>2</sub> des espaces intercellulaires vers le chloroplaste, ce qui pourra limiter la fixation du CO<sub>2</sub> (Chaves et al, 2009). La restriction d'eau aboutit souvent à la fermeture des stomates, un mécanisme efficace contre la perte d'eau. Cet effet a déjà été observé chez les plantes de *S. tuberosum* soumises à un stress hydrique en conditions *in vitro* (Sprenger et al, 2016). Li et al. (2017) ont observé une diminution du taux de photosynthèse chez des plantules de pomme de terre sous un déficit hydrique sévère. Ces mêmes chercheurs ont suggéré que cette réduction photosynthétique est due à la limitation

stomatique et aux dommages causés au photosystème II et aux enzymes antioxydantes. Ghotbi-Ravandi et al. (2014) ont signalé une réduction à la fois du taux d'assimilation du CO<sub>2</sub> et de la conductance stomatique des génotypes d'orge soumis à un stress hydrique sévère. Demirel et al. (2020) ont trouvé que la teneur en eau relative des feuilles est affectée par le stress hydrique, alors que pour certains cultivars, l'accumulation de proline est similaire ou plus élevée sous le déficit hydrique que de la chaleur.

## 6 Essais de conservation des microtubercules

### 6.1 Effet de la durée de stockage sur la germination des microtubercules

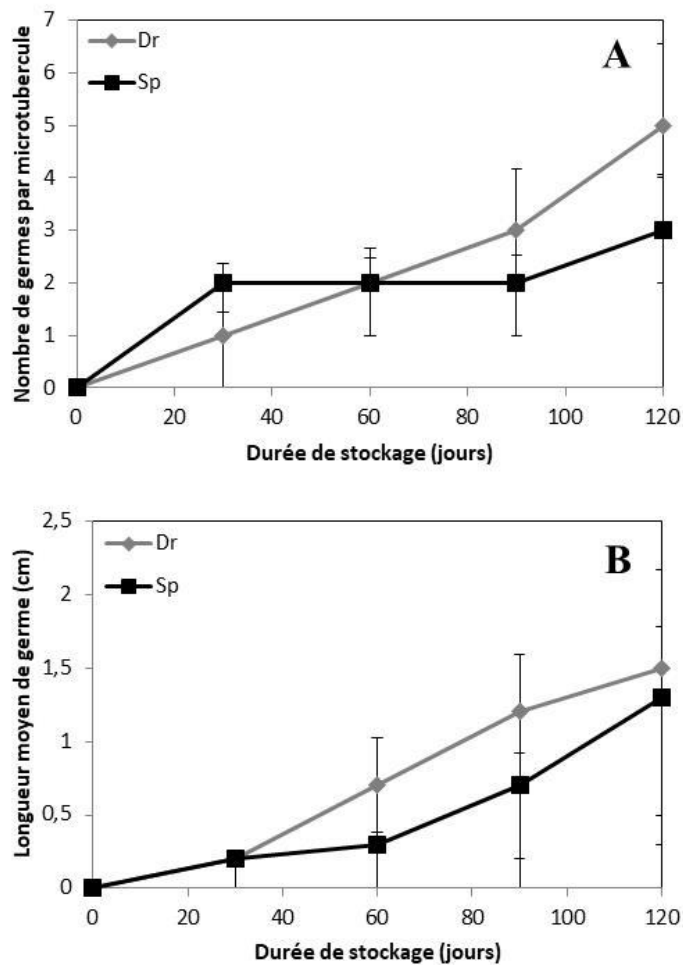
Afin d'étudier l'incidence de la durée de conservation des microtubercules sur la germination ultérieure, nous avons utilisé 5 lots de microtubercules conservés à l'obscurité pendant 30, 60, 90 et 120 jours à 4°C. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 26.** Effet de la durée de conservation à 4 °C sur le taux de germination de microtubercules de deux cultivars de *Solanum tuberosum* L., *Désirée* et *Spunta*.

Cultivar	Durée de stockage (jours)			
	30	60	90	120
<i>Désirée</i>	16,7	36,7	46,7	76,7
<i>Spunta</i>	23,3	30	56,7	90

L'analyse du tableau 26, montre qu'environ 30 et 36,7% de microtubercules germés ont été observés respectivement, chez *Spunta* et *Désirée* après 8 semaines de culture. Les taux finaux de germination contenus dans le tableau 26 sont obtenus après la 16<sup>ème</sup> semaine.

Il semble donc que le stockage a induit une période de dormance qu'a été maximale entre 6 et 8 semaines. Après quatre mois de stockage, un effet significatif de la variété de pomme de terre sur la dormance en termes de nombre de germes a été constaté. Le cv. *Désirée* a donné le développement de germes le plus élevé (environ 5 germes), alors que la germination de microtubercules de *Spunta* a produit 3 germes (Figure 24A). Il est à signaler qu'aucune différence significative n'a été observée pour la longueur de germe des deux variétés étudiées (Figure 24B). Les germes ont atteint une longueur maximale de 1,5 cm chez les deux cultivars *Spunta* et *Désirée*.



**Figure 24.** Influence de la durée de stockage sur la germination de microtubercules de deux cultivars de pomme de terre, *Désirée* (Dr) et *Spunta* (Sp). (A) Nombre de germes par microtubercule, (B) Longueur moyenne de germe.

La qualité de semences de la pomme de terre dépend de la teneur en amidon, qui est liée à la vigueur de la germination (Park et al, 2009). Les microtubercules les plus gros ont germé significativement plus tôt comparativement aux autres microtubercules. Pareil pour la longueur de germe, la plus élevée a été enregistrée chez les gros microtubercules. La fermeté de semences dépend de la teneur en matière sèche immédiatement après la récolte, qui peut être étroitement liée à sa vigueur de germination (Farré et al, 2001). La différence enregistrée entre les deux variétés étudiées de point de vue dormance, est un phénomène bien caractérisé dans la littérature. Magdalena et Dariusz (2018) ont rapporté que la durée de dormance dépend principalement de la variété et est modulée par d'autres paramètres, tels que la température de stockage et les conditions environnementales contrôlées.

## 6.2 Effet du poids des microtubercules sur la germination

Parmi les trois classes de microtubercules testés, la classe à poids moyen (0,5-1 g) a montré le pourcentage de germination le plus élevé (65%) (Figure 25) suivi par la classe (>1 g) puis celle caractérisée par un poids <0,5 g. Le pourcentage moyen de germination pour la variété *Spunta* était de 40; 76,7 et 43,3 respectivement pour les trois classes (<0,5 g; 0,5-1 g et  $\geq 1$  g) après 120 jours de conservation à 4°C alors que pour la variété *Désirée*, il était respectivement de 13,3 ; 53,3 et 66,7% après traitement (Tableau 27).

**Tableau 27.** Effet du poids des microtubercules conservés à 4°C sur la germination de deux cultivars de pomme de terre (*Désirée* : Dr et *Spunta* : Sp).

	Classes de microtubercules					
	<0,5 g		0,5-1 g		>1 g	
	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp	cv.Dr	cv.Sp
Nombre de microtubercules	30	30	30	30	30	30
Germination (%)	13,3	40	53,3	76,7	66,7	43,3
Moyennes	26,65		65		55	



**Figure 25.** Germination *in vitro* de microtubercules à poids moyen (0,5-1 g) conservés à 4 °C.

Dans les conditions *in vivo*, le calibre et le poids sont les indices les plus importants pour estimer la qualité des pommes de terre de semence. Les microtubercules, les plus gros ont une meilleure qualité en tant que semence en termes de maintien de leur poids frais, de leur fermeté et également en termes de pourriture pendant le stockage. Park et al. (2009) ont indiqué que pour se comporter de manière adéquate dans des conditions rigoureuses, le

microtubercule doit avoir un poids minimum de 0,5 g. C'est ce que nous avons constaté aussi. Ce poids est suffisant pour effectuer la maturité physiologique et la germination. La classe de microtubercules à poids moyen (0,5-1 g) est jugée idéale pour être utilisée comme semences.

La pomme de terre joue un rôle essentiel dans le système alimentaire mondial, notamment dans la sécurité alimentaire et nutritionnelle, la réduction de la pauvreté, la conservation de l'environnement et le développement durable. Il est donc important de stocker les microtubercules récoltés en temps voulu avec des produits anti-germination appropriés. Plusieurs rapports font état d'inhibiteurs de germination dérivés de composés naturels et synthétiques tels que l'éthylène et le 1-MCP (1-méthylcyclopropène), ainsi que de techniques telles que l'irradiation aux ultraviolets C et la fumigation à l'aide d'huiles essentielles de plantes (Foukaraki et al, 2016).

### 6.3 Influence de la déshydratation des microtubercules sur la qualité physiologique

La teneur en eau de la variété est un facteur majeur pour la conservation des microtubercules. La variété *Désirée* a donné le pourcentage le plus faible de microtubercules frais. La teneur en eau des microtubercules des deux cultivars testés varie de 11,1 à 18,5 % après 30 min de déshydratation et de 12,9 à 18,6 % après 1 h de déshydratation (Tableau 28). La teneur en eau de *Spunta* est significativement plus élevée que celle de *Désirée* à 2 h. En général, les microtubercules de la variété *Désirée* étaient de taille et de forme uniformes alors que ceux de *Spunta* étaient irréguliers.

**Tableau 28.** Influence de la durée de déshydratation sur la teneur en eau des microtubercules de deux variétés de pomme de terre, *Désirée* et *Spunta*.

Cultivars	Durée de déshydratation (min)	Teneur en eau (%)
<i>Désirée</i>	0	16,2
	30	18,5
	60	12,9
	90	15,9
	120	22,4
<i>Spunta</i>	0	22,9
	30	11,1
	60	18,6
	90	15,7
	120	25,3

Contrairement à d'autres plantes qui peuvent être déshydratées pour être stockées, les tubercules de pomme de terre ont un métabolisme actif, de sorte que des changements physiologiques se produisent pendant le stockage. Cela affecte la qualité des microtubercules de pomme de terre. Les techniques actuelles de génie génétique ont permis de maintenir la période de dormance. À l'avenir, en utilisant certains gènes, il pourra être possible de dicter plusieurs stades de croissance et de développement des microtubercules.

La détermination de la période de dormance des variétés peut fournir une option alternative pour la conservation à court et moyen terme. Alexopoulos et al. (2008) ont montré que la germination est accompagnée de nombreux changements physiologiques, y compris des augmentations de la teneur en sucre réducteur, de la respiration, de la perte d'eau et de la teneur en alcaloïdes de glycol. Les mêmes auteurs ont également mentionné que l'AG<sub>3</sub> augmentait le taux de perte de poids du tubercule par rapport au contrôle. De même, Ahimed et al. (2022) ont constaté que les tubercules de pomme de terre traités avec GA<sub>3</sub> et GA<sub>3</sub>+BAP avaient un effet significatif sur la perte de leur poids tout au long de la période de stockage.

#### **6.4 Effet de la cryoconservation sur la survie et la germination des microtubercules**

Dans ces essais, des microtubercules d'environ 5 mm de diamètre ont été déshydratés sur du gel de silice stérile pendant 0 ; 30 ; 60 ; 90 et 120 min (Figure 26A), et ce afin de déterminer la teneur en eau la plus efficace à la conservation de ce matériel végétal dans l'azote liquide (LN) à -196°C. L'utilisation de microtubercules fournit une nouvelle source d'explants pour la cryoconservation de la pomme de terre.

Tous les traitements testés de la déshydratation ont donné 100 % de microtubercules verts et en survie (Tableau 29). Le pourcentage de microtubercules devenus verts après la déshydratation sur le gel de silice et la cryoconservation dans le LN a varié de manière non significative selon les traitements. Les microtubercules de *Désirée* déshydratés pendant 90 min ont affiché le taux de germination le plus élevé par rapport aux autres durées de déshydratation testées.

Les microtubercules déshydratés pendant 90 min et cryoconservés à l'azote liquide ont pu germer après leur culture sur le milieu nutritif de MS (Figure 26D). Toutefois, aucune germination n'a été observée pour les microtubercules issus des autres traitements. Également, la variété *Spunta* n'a affiché aucune germination de ses microtubercules cryoconservés.

Toutes les pousses obtenues après cryoconservation semblent saines et normales, sans différence évidente entre les microtubercules cryoconservés et les témoins.

**Tableau 29.** Taux de survie et de germination des microtubercules de deux variétés de pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*) après traitements de déshydratation et de cryoconservation.

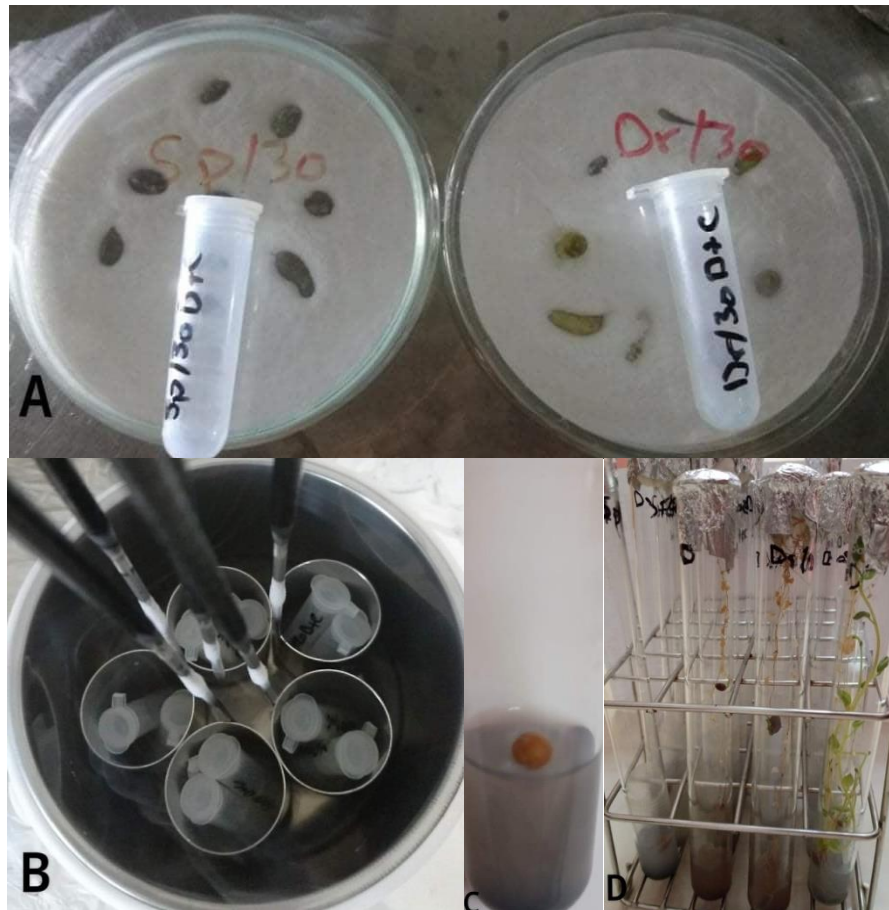
Cultivars	Durée (min)	Survie (%)		Germination (%)	
		Déshydratation	Déshydratation + cryoconservation	Déshydratation	Déshydratation + cryoconservation
<i>Désirée</i>	0	100	95	10	0
	30	100	95	0	0
	60	100	100	70	0
	90	100	100	95	10
	120	100	100	0	0
<i>Spunta</i>	0	90	90	0	0
	30	100	100	10	0
	60	100	100	10	0
	90	100	100	10	0
	120	100	100	0	0

Plusieurs pays dans le monde dépendent des tubercules de pomme de terre pour leur alimentation et leurs revenus. Par conséquent, les efforts continus en vue de l'amélioration de la pomme de terre sont importants en termes de production végétale et de conservation du germoplasme. Les microtubercules cryoconservés de pomme de terre sont un matériel végétal idéal pour la conservation à long terme de l'espèce. Les techniques de culture *in vitro* ont rendu possible la production de microtubercules de pomme de terre. Nos résultats ont montré une variation dans la production de microtubercules chez les deux cultivars étudiés.

Les microtubercules sont induits à partir de pousses *in vitro* et sont utilisés pour l'assainissement, la propagation et la conservation du germoplasme de la pomme de terre (Ranalli, 2007). Park et al. (2009) ont rapporté que la dessiccation des microtubercules constitue un obstacle majeur au stockage de la pomme de terre. Le pourcentage de microtubercules déshydratés le plus élevé a été obtenu avec les microtubercules de petite taille.



La cryoconservation des apex de pousses de pomme de terre a été largement étudiée depuis la fin des années 1970 (Kaczmarczyk et al, 2011). Récemment, Uchendu et al. (2016) ont rapporté la réussite de la cryoconservation de microtubercules à partir de segments nodaux de *S. tuberosum* tout en éliminant l'étape d'excision des apex de pousses. À notre connaissance, il s'agit du deuxième rapport sur la cryoconservation de microtubercules de pomme de terre. La cryoconservation des microtubercules est importante pour la préservation à long terme du matériel végétal contre la perte de toute information génétique inhérente. Il est également important que les microtubercules soient stockés dans des conditions stériles et contrôlées, puis de relancer la germination et la production quand cela est nécessaire.



**Figure 26.** Cryoconservation des microtubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.).

(A) Déshydratation des microtubercules sur gel de silice, (B) Microtubercules placés dans les cryotubes et immergés dans l'azote liquide (LN), (C) Microtubercule cryoconservé après 3 jours de culture, (D) croissance des vitroplants témoins après 4 semaines de culture .

*Conclusion  
générale &  
perspectives*

## Conclusion générale et perspectives

### 1 Conclusion générale

La production de plants de pommes de terre nécessite une bonne maîtrise technique. Il s'agit de produire végétativement des tubercules contenant un minimum d'infections phytopathogènes. Le problème réside dans la propension naturelle des tubercules à transmettre aux générations suivantes ces infections d'origines microbiologiques.

Dans le but de contrecarrer la dégénérescence, les méthodes actuellement utilisées consistent en l'obtention de tubercules de semence de haute qualité sanitaire. Le développement de nouvelles techniques de production de plants, notamment les cultures *in vitro* de la pomme de terre, a permis une nette amélioration de la qualité des productions. Les produits de ces cultures *in vitro* (vitroplants, microtubercules) sont couramment associés aux programmes de production de plants de pommes de terre.

L'induction de la microtubérisation de deux variétés de *Solanum tuberosum* a été réalisée sur différents milieux MS. L'effet de certains facteurs physiques et chimiques, a été mis en évidence à travers l'évaluation de quelques caractères morphologiques (nombre de feuilles et des entre-nœuds, longueur de pousses et de racines, biomasses fraîches de l'appareil végétatif aérien et racinaire), et de caractères relatifs aux microtubercules produits (nombre, poids et diamètre de microtubercules).

Il ressort de cette étude que, la culture en milieu semi-solide a eu une influence significative sur la croissance de microtubercules de pomme de terre, notamment sur les deux paramètres d'appréciation, la taille et le poids. Chez la variété *Spunta*, ce milieu a permis la production de microtubercules de qualité (1,4 cm de diamètre et 1,2 g de poids). En revanche, le milieu liquide a augmenté le nombre de microtubercules, mais leur taille et leur poids sont restés faibles.

Nos résultats ont montré également l'effet bénéfique du charbon actif (CA) sur la croissance des microtubercules des deux variétés étudiées. Les concentrations de 2 et 10 g l<sup>-1</sup> entraînent une augmentation de la taille et du poids des microtubercules produits où nous avons enregistré respectivement, 1,04 cm et 1,06 g pour le cultivar *Désirée* et 1,16 cm et 0,94 g pour *Spunta*. Le système de culture que nous avons proposé, à savoir

l'incorporation de charbon actif aux milieux de culture, peut être adopté pour améliorer la production de microtubercules de haute qualité.

La tubérisation *in vitro* est un phénomène complexe. Certains facteurs nutritionnels, comme les régulateurs de croissance exogènes et la source carbonée, sont déterminants dans le processus de microtubérisation. Dans nos essais, les milieux nutritifs additionnés de thidiazuron (TDZ) à la dose de 1 mg l<sup>-1</sup> ont été jugés plus favorables à la tubérisation *in vitro* comparativement aux autres traitements hormonaux testés, y compris la *méta*-Topoline (*mT*), utilisée pour la première fois chez la pomme de terre. L'utilisation de cette cytokinine aromatique n'a pas amélioré les résultats bien que son efficacité a déjà été signalée chez de nombreuses autres plantes (Benmahioul et al, 2012b).

Nos résultats obtenus ont montré également que la substitution du saccharose par le mannitol ou le sorbitol n'a pas amélioré les rendements. Bien au contraire, à certaines doses, nous avons noté un effet négatif de ces sucres sur le diamètre et le poids des microtubercules produits.

Les stress abiotiques appliqués (salin et hydrique) ont induits des effets négatifs sur l'induction *in vitro* et la croissance de microtubercules de pomme de terre. En effet, la réduction des différents paramètres de croissance étudiés par rapport au témoin, est importante pour la longueur des pousses, le nombre de feuilles et la longueur racinaire. La variété *Désirée* est jugée plus tolérante au sel par rapport à *Spunta* en termes de capacité de microtubérisation et de caractéristiques morphologiques. Toutefois, la capacité de tubérisation *in vitro* de *Spunta* est remarquable dans les conditions de stress hydrique comparativement à la variété *Désirée* qui est modérément tolérante. Une étude plus approfondie de la diversité génétique dans la réponse au stress peut également contribuer à l'amélioration de nouvelles variétés tolérantes et à une meilleure compréhension des mécanismes de régulation des signaux de tolérance au stress chez la pomme de terre.

Les microtubercules les plus gros ont une meilleure qualité en tant que semences en termes de maintien de leur poids frais pendant le stockage. Nos études ont montré que pour se comporter de manière adéquate dans des conditions rigoureuses, le microtubercule doit avoir un poids minimum de 0,5 g, poids suffisant pour effectuer la maturité physiologique et la germination. Cependant, les microtubercules de pomme de terre peuvent être utilisés si la perte d'eau n'est pas grave et s'ils conservent leur capacité de germination.

Nos essais de cryoconservation ont abouti à des résultats encourageants. Les microtubercules de la variété *Désirée* déshydratés pendant 90 min sur silica gel ont affiché le taux de germination le plus élevé après conservation à l'azote liquide à -196°C. Ce procédé de conservation à basse température minimise d'une part les difficultés liées à la manipulation continue de grandes quantités de microtubercules par d'autres approches et améliore d'autre part, la gestion des collections de pommes de terre. La cryoconservation augmente la possibilité d'obtention de microtubercules indemnes de maladies, ce qui améliore l'échange international de semences et encourage le développement des techniques de production innovantes et économes pour la filière pomme de terre.

## **2 Perspectives**

La qualité nutritionnelle de ses tubercules et la capacité de pousser sur de grandes étendues du territoire national, font de la pomme de terre une plante nourricière de grande importance qui mérite toute l'attention des chercheurs et des décideurs. Les travaux de recherche entrepris en Algérie doivent se poursuivre et s'intensifier à plusieurs niveaux : sur la production de semences *in vitro* et *in vivo*, sur la caractérisation des variétés existantes, sur la recherche de variétés précoces et résistantes.

Concernant les processus de propagation et de microtubérisation, les paramètres comme les facteurs ambiants (la température et la lumière) et certaines substances stimulatrices, telles que le paclobutrazol et l'ancymidol peuvent être pris en compte dans les futures recherches. Également, la combinaison de la culture *in vitro* et la technique hydroponique peut améliorer la garantie de la production de semences de haute qualité sanitaire. Des études comparatives des semences produites *in vitro* et *in vivo* peuvent se faire pour estimer la vitesse de croissance, le rendement et la résistance aux agents pathogènes. Ces études devront également analyser le comportement de différentes variétés de pomme de terre en prenant en compte les différents types de sol et les zones climatiques.

Ces propositions constituent de simples suggestions. Elles méritent toutefois d'être étudiées et approfondies afin de développer et améliorer la filière pomme de terre en Algérie.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

1. Abelenda, J. A., Bergonzi, S., Oortwijn, M., Sonnewald, S., Du, M., Visser, R. G. F., Sonnewald, U., & Bachem, C. W. B. (2019). Source-sink regulation is mediated by interaction of an FT homolog with a SWEET protein in potato. *Current Biology: CB*, 29. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.018>.
2. Acosta, Y., Pérez, L., Linares, C., Hernández, L., Escalante, D., Pérez, A., Zevallos, B. E., Yabor, L., Martínez-Montero, M. E., Cejas, I., Fontes, D., Sershen, & Lorenzo, J. C. (2020). Effects of *Teramnus labialis* (L.f.) Spreng seed cryopreservation on subsequent seed and seedling growth and biochemistry. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42(1), 7. <https://doi.org/10.1007/s11738-020-3012-9>
3. Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., & Komatsu, S. (2009). Potato responds to salt stress by increased activity of antioxidant enzymes. *Journal of Integrative Plant Biology*, 51(12), 1095–1103. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2009.00886.x>
4. Agrawal, A., Singh, S., Malhotra, E. V., Meena, D., & Tyagi, R. K. (2019). In Vitro Conservation and Cryopreservation of Clonally Propagated horticultural Species. In *Conservation and Utilization of horticultural Genetic Resources* (pp. 529–578). Springer.
5. Ahimed, K., Mengistu, F. G., & Asella, E. (2022). Effects of Plant Growth Regulators on Tuber Dormancy and Sprouting of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Varieties at Kulumsa, Southeast Ethiopia. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*.
6. Ahmed, H. A. A., Şahin, N. K., Akdoğan, G., Yaman, C., Köm, D., & Uranbey, S. (2020). Variability in salinity stress tolerance of potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties using in vitro screening. *Ciencia e Agrotecnologia*, 44, 1–14. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044004220>
7. Ahn, Y. K., & Park, T. H. (2013). Resistance to common scab developed by somatic hybrids between *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 63(7), 595–603. <https://doi.org/10.1080/09064710.2013.829867>
8. Ai, Y., Jing, S., Cheng, Z., Song, B., Xie, C., Liu, J., & Zhou, J. (2021). DNA methylation affects photoperiodic tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) by mediating the expression of genes related to the photoperiod and GA pathways. *Horticulture Research*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00619-7>
9. Akita, M., & Takayama, S. (1994). Induction and development of potato tubers in a jar fermentor. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 36(2), 177–182.
10. Aksenova, N. P., Sergeeva, L. I., Kolachevskaya, O. O., & Romanov, G. A. (2014). *Hormonal regulation of tuber formation in potato*. Taylor & Francis Group.
11. Aksoy, E., Demirel, U., Bakhsh, A., Zia, M. A. B., Naeem, M., Saeed, F., Çalışkan, S., & Çalışkan, M. E. (2021). Recent Advances in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Breeding. In A.-K. J.M., J. S.M., & J. D.V (Eds.), *Advances in Plant Breeding Strategies: Vegetable Crops* (pp. 409–487). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-66965-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-66965-2_10)
12. Alexopoulos, A. A., Aivalakis, G., Akoumianakis, K. A., & Passam, H. C. (2008). Effect of gibberellic acid on the duration of dormancy of potato tubers produced by plants derived from true potato seed. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 424–430. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.02.009>
13. Ali, S., Khan, N., Nouroz, F., Erum, S., & Nasim, W. (2018). Effects of sucrose and growth regulators on the microtuberization of cip potato (*Solanum tuberosum*) germplasm. *Pakistan Journal of Botany*, 50(2), 763–768.

14. Allen, E. J., O'Brien, P. J., & Firman, D. (1992). Seed tuber production and management. In P. M. Harris (Ed.), *The Potato Crop* (pp. 247–291). Chapman and Hall. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-2340-2\\_6](https://doi.org/10.1007/978-94-011-2340-2_6)
15. Alves, F. M., Rocha Gonring, A. H., Zanuncio, J. C., de Sena Fernandes, M. E., Plata-Rueda, A., & Fernandes, F. L. (2017). Economic damage levels and treatment thresholds for leafminer insects in *Solanum tuberosum* crops. *Crop Protection*, *100*, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.06.008>
16. Alves, V., Pinto, R., Debiassi, C., Santos, M. C., Gonçalves, J. C., & Domingues, J. (2021). Micropropagation of *Corema album* from adult plants in semisolid medium and temporary immersion bioreactor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *145*(3), 641–648. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02034-1>
17. Amerian, M., & Esna-Ashari, M. (2011). Effect of NaCl stress and sucrose on potato microtuberization. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, *5*(2), 96–98.
18. Andrivon, D. (2017). Potato Facing Global Challenges: How, How Much, How Well? *Potato Research*, *60*(3–4), 389–400. <https://doi.org/10.1007/s11540-018-9386-z>
19. Aragão, V. P. M., de Souza Ribeiro, Y. R., Reis, R. S., Macedo, A. F., Floh, E. I. S., Silveira, V., & Santa-Catarina, C. (2016). *In vitro* organogenesis of *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae): the involvement of endogenous polyamines and carbohydrates on shoot development. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *124*(3), 611–620. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0919-8>
20. Arakawa, T., Yu, J., & Langridge, W. H. R. (1999). Food plant-delivered cholera toxin B subunit for vaccination and immunotolerization. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (464), 161–178. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4729-7\\_13](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4729-7_13)
21. Aremu, A. O., Bairu, M. W., Doležal, K., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2012). Topolins: A panacea to plant tissue culture challenges? *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *108*(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0007-7>
22. Arkhipov, D. V., Lomin, S. N., Myakushina, Y. A., Savelieva, E. M., Osolodkin, D. I., & Romanov, G. A. (2019). Modeling of protein–protein interactions in cytokinin signal transduction. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(9). <https://doi.org/10.3390/ijms20092096>
23. Arregui, L. M., Veramendi, J., & Mingo-Castel, A. M. (2003). Effect of gelling agents on *in vitro* tuberization of six potato cultivars. *American Journal of Potato Research*, *80*(2), 141–144. <https://doi.org/10.1007/BF02870213>
24. Arun, K. B., Chandran, J., Dhanya, R., Krishna, P., Jayamurthy, P., & Nisha, P. (2015). A comparative evaluation of antioxidant and antidiabetic potential of peel from young and matured potato. *Food Bioscience*, *9*, 36–46. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2014.10.003>
25. Aslam, A., & Iqbal, J. (2010). Combined effect of cytokinin and sucrose on *in vitro* tuberization parameters of two cultivars i.e. diamant and red norland of potato (*Solanum tuberosum*). *Pakistan Journal of Botany*, *42*(2), 1093–1102.
26. Astarini, I. A., Putu Kayika Febryanti, N. L., & Miller, Jr, J. C. (2021). Influence of Media Composition and Genotype on Potato (*Solanum tuberosum* L.) Microtuberization. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, *12*(1), 51–58. <https://doi.org/10.29244/jhi.12.1.51-58>
27. Austin, S., Pohlman, J. D., Brown, C. R., Mojtahedi, H., Santo, G. S., Douches, D. S., & Helgeson, J. P. (1993). Interspecific somatic hybridization between *Solanum tuberosum* L. (Linnaeus) and *S. (Solanum) bulbocastanum* Dun. as a means of transferring nematoderesistance. *American Potato Journal*, *70*(6).



28. Aysha, & Sumbal, A. (2020). Prospects for potato genome editing to engineer resistance against viruses and cold-induced sweetening. *GM Crops & Food*, 11(4), 185–205. <https://doi.org/10.1080/21645698.2019.1631115>
29. Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2009). Single Node Callus Culture: Improvement for Micropropagation of *Solanum tuberosum* (cv. Kufri Himalini). *Nature and Science*, 7(3), 1545–1740.
30. Bains, P. S., Bisht, V. S., Lynch, D. R., Kawchuk, L. M., & Helgeson, J. P. (1999). Identification of stem soft rot (*Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica*) resistance in potato. *American Journal of Potato Research*, 76(3), 137–141. <https://doi.org/10.1007/bf02853578>
31. Baljeet, S., Sarvjeet, K., & Umesh, G. (2019). Impact of heat stress on potato (*Solanum tuberosum* L.): present scenario and future opportunities. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1080/14620316.2019.1700173>
32. Bekheet, S. A., Sota, V., El-Shabrawi, H. M., & El-Minisy, A. M. (2020). Cryopreservation of shoot apices and callus cultures of globe artichoke using vitrification method. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s43141-019-0016-1>
33. Belguendouz, A. (2012). Essai de substitution des milieux de culture en micropropagation et la physiologie de la micro tubérisation de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.). Mémoire de magister en Agronomie, Université de Tlemcen, 184p.
34. Belguendouz, A., Kaide Harche, M., & Benmahioul, B. (2021). Evaluation of different culture media and activated charcoal supply on yield and quality of potato microtubers grown *in vitro*. *Journal of Plant Nutrition*, 44(14), 2123–2137. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1881545>
35. Benmahioul, B. (2009). Amélioration de la micropropagation *in vitro* du pistachier (*Pistacia vera* L.) en vue de l'extension des vergers en Algérie. Thèse de doctorat En Biotechnologie Végétale, Université Des Sciences et Technologies Mohamed Boudiaf d'Oran, 129p.
36. Benmahioul, B., Kaid-Harche, M., Dorion, N., & Daguin, F. (2009). *In vitro* embryo germination and proliferation of pistachio (*Pistacia vera* L.). *Scientia Horticulturae*, 122(3), 479–483. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.05.029>
37. Benmahioul, B., Kaïd-harche, M., & Daguin, F. (2012a). Influence of activated charcoal on *in vitro* embryo germination and growth of plantlets of pistachio (*Pistacia vera* L.). *International Journal of Science and Nature*, 3(3), 613–616.
38. Benmahioul, B., Dorion, N., Kaid-Harche, M., & Daguin, F. (2012b). Micropropagation and *ex vitro* rooting of pistachio (*Pistacia vera* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 108(2), 353–358. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0040-6>
39. Benmahioul, B., Daguin, F., & Kaïd-Harche, M. (2015). Cryopreservation of *pistacia vera* embryonic axes - Short communication. *Journal of Forest Science*, 61(4), 182–187. <https://doi.org/10.17221/63/2014-JFS>
40. Berdugo-Cely, J., Valbuena, R. I., Sánchez-Betancourt, E., Barrero, L. S., & Yockteng, R. (2017). Genetic diversity and association mapping in the colombian central collection of *Solanum tuberosum* L. Andigenum group using SNPs markers. *PLoS ONE*, 12(3), 173039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173039>
41. Bessaoud, O., Pellissier, J. P., Rolland, J. P., & Khechimi, W. (2019). Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie (pp. 82 –02137632).

42. Bethke, P. C., Halterman, D. A., & Jansky, S. (2017). Are we getting better at using wild potato species in light of new tools? *Crop Science*, 57(3), 1241–1258. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0889>
43. Bhaskar, P. B., Wu, L., Busse, J. S., Whitty, B. R., Hamernik, A. J., Jansky, S. H., Buell, C. R., Bethke, P. C., & Jiang, J. (2010). Suppression of the vacuolar invertase gene prevents cold-induced sweetening in potato. *Plant Physiology*, 154(2), 939–948. <https://doi.org/10.1104/pp.110.162545>
44. Bhat, W. W., Lattoo, S. K., Razdan, S., Dhar, N., Rana, S., Dhar, R. S., Khan, S., & Vishwakarma, R. A. (2012). Molecular cloning, bacterial expression and promoter analysis of squalene synthase from *Withania somnifera* (L.)Dunal. *Gene*, 499(1), 25–36. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.03.004>
45. Birch, P. R. J., Bryan, G. J., Fenton, B., Gilroy, E. M., Hein, I., Jones, J. T., Prashar, A., Taylor, M. A., Torrance, L., & Toth, I. K. (2012). Crops that feed the world 8: potato: are the trends of increased global production sustainable? *Food Secur*, 4:477–508. <https://doi.org/10.1007/s12571-012-0220-1>
46. Bizarri, M., Borghi, L., & Ranalli, P. (1995). Effects of activated charcoal effects on induction and development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Annals of Applied Biology*, 127(1), 175–181. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1995.tb06662.x>
47. Borda, C. C., Toledo, J., Golmirzaie, A., & Roca, W. (2001). Effect of inductors of tuberization and photoperiod on the microtuberization of *Solanum tuberosum* L.
48. Borna, R. S., Hoque, M., & Sarker, R. (2019). *In vitro* Microtuber Induction and Regeneration of Plantlets from Microtuber Discs of Cultivated Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 29(1), 63–72. <https://doi.org/10.3329/ptcb.v29i1.41979>
49. Bradshaw, J. E. (2009). Potato breeding at the Scottish plant breeding station and the Scottish crop research institute: 1920-2008. *Potato Research*, 52(2), 141–172. <https://doi.org/10.1007/s11540-009-9126-5>
50. Braun, S., Gevens, A., Charkowski, A., Allen, C., & Jansky, S. (2017). Potato Common Scab: a Review of the Causal Pathogens, Management Practices, Varietal Resistance Screening Methods, and Host Resistance. *American Journal of Potato Research*, 94(4), 283–296. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9575-3>
51. Brenner, W. G., Romanov, G. A., Köllmer, I., Bürkle, L., & Schmülling, T. (2005). Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades. *Plant Journal*, 44(2), 314–333. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02530.x>
52. Brown, C. R. (1990). Modern evolution of the cultivated potato gene pool. In: M. E. Vayda and W. D. Park (Eds.), *The Molecular and Cellular Biology of the Potato*. CAB International, Wallingford, UK, p1–11.
53. Brown, C. R., Mojtahedi, H., James, S., Novy, R. G., & Love, S. (2006). Development and evaluation of potato breeding lines with introgressed resistance to Columbia root-knot nematode (*Meloidogyne chitwoodi*). *American Journal of Potato Research*, 83(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/BF02869604>
54. Brown, C. R., & Henfling, J. W. (2014). A History of the Potato, In: Navarre R., Pavek M.J. (Eds.) *The Potato: Botany, Production and Use*, (pp. 1–11). Wallingford, UK: CABI.
55. Brütting, C., Schäfer, M., Vanková, R., Gase, K., Baldwin, I. T., & Meldau, S. (2017). Changes in cytokinins are sufficient to alter developmental patterns of defense metabolites in *Nicotiana attenuata*. *Plant Journal*, 89(1), 15–30. <https://doi.org/10.1111/tpj.13316>

56. Buckseth, T., Sharma, A. K., Pandey, K. K., Singh, B. P., & Muthuraj, R. (2016). Methods of pre-basic seed potato production with special reference to aeroponics-A review. *Scientia Horticulturae*, 204, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.03.041>
57. Buckseth, T., & Singh, R. K. (2018). Hi-tech seed production system Training on Seed Potato Production (04th April – 13th April, 2018). *ICAR-Central Potato Research Institute Shimla-171001.H. P*, 8-13.
58. Buckseth, T., Singh, R. K., Sharma, A. K., Sharma, S., Moudgil, V., & Saraswati, A. (2018). Optimization of Activated Charcoal on in vitro Growth and Development of Potato (*Solanum tuberosum* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10), 3543–3548. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.710.410>
59. Burton, W. G. (1989). *The Potato* (3rd edn). John Wiley and Sons.
60. Butler, C. D., Gonzalez, B., Manjunath, K. L., Lee, R. F., Novy, R. G., & Miller, J. C. (2011). Behavioral responses of adult potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioziidae), to potato germplasm and transmission of *Candidatus Liberibacter psyllae*. *Crop Prot*, 30(9), 1233–8.
61. Cadima Fuentes, X., van Treuren, R., Hoekstra, R., van den Berg, R. G., & Sosef, M. S. M. (2017). Genetic diversity of Bolivian wild potato germplasm: changes during ex situ conservation management and comparisons with resampled in situ populations. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(2), 331–344. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0357-9>
62. Calori, A. H., Factor, T. L., Feltran, J. C., Watanabe, E. Y., Moraes, C. C., & Purquerio, L. F. V. (2017). Electrical conductivity of the nutrient solution and plant density in aeroponic production of seed potato under tropical conditions (winter/spring). *Bragantia Campinas*, 76(1), 23–32.
63. Carputo, D., Aversano, R., Barone, A., Di Matteo, A., Iorizzo, M., Sigillo, L., Zoina, A., & Frusciantè, L. (2009). Resistance to *Ralstonia solanacearum* of sexual hybrids between *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*. *American Journal of Potato Research*, 86(3), 196–202. <https://doi.org/10.1007/s12230-009-9072-4>
64. Carrera, E., Riot, G., Reust, W., Dutoit, J.P., Torche, J.M., & Dupuis, B. (2015). Physiologie des variétés de pommes de terre et conséquences pour le producteur. *Recherche Agronomique Suisse*, 6, (4), 2015, 166-173.
65. Chakraborty, B., Willemsen, V., de Zeeuw, T., Liao, C. Y., Weijers, D., Mulder, B., & Scheres, B. (2018). A Plausible Microtubule-Based Mechanism for Cell Division Orientation in Plant Embryogenesis. *Current Biology*, 28(19), 3031-3043.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.025>
66. Chandel, P., Tiwari, J. K., Ali, N., Devi, S., Sharma, S., Sharma, S., Luthra, S. K., & Singh, B. P. (2015). Interspecific potato somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. cardiophyllum*, potential sources of late blight resistance breeding. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 123(3), 579–589. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0862-8>
67. Charkowski, A., Sharma, K., Parker, M. L., Secor, G. A., & Elphinstone, J. (2020). “Bacterial diseases of potato” in *The Potato Crop*. eds H. Campos, O. Ortiz. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_10)
68. Chaves, M. M., Flexas, J., & Pinheiro, C. (2009). Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4), 551–560. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn125>
69. Chen, L., Xue, X., Yang, Y., Chen, F., Zhao, J., Wang, X., Khan, A. T., & Hu, Y. (2018). Effects of red and blue LEDs on in vitro growth and microtuberization of potato single-node

- cuttings. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 5(2), 197–205. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2018224>
70. Cheong, E. J., & An, C. (2015). Effect of Carbohydrates on in vitro Shoot Growth of Various *Prunus* Species. *Korean Journal of Plant Resources*, 28(3), 357–362. <https://doi.org/10.7732/kjpr.2015.28.3.357>
71. Child, A. A. (1990). Synopsis of *Solanum subgenus* Potatoe (G. DON) (D'ARCY) (*Tuberarium*) (DUN.) BITTER (s.l.). *Feddes Repertorium*, 101, 209–235.
72. Chindi, A., Giorgis, G. W., Solomon, A., Tessama, L., & Negash, K. (2014). Rapid multiplication techniques (RMTs): A tool for the production of quality seed potato (*Solanum tuberosum* L.) In Ethiopia. *Asian Journal of Crop Science*, 6(3), 176–185. <https://doi.org/10.3923/ajcs.2014.176.185>
73. Chinnusamy, V., & Zhu, J. K. (2003). Plant salt tolerance. *Topics in Current Genetics*, 4, 241–270.
74. Chung, I. M., Kim, J. K., Jin, Y. I., Oh, Y. T., Prabakaran, M., Youn, K. J., & Kim, S. H. (2016). Discriminative study of a potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivation region by measuring the stable isotope ratios of bio-elements. *Food Chemistry*, 212, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.161>
75. Chung, Y. S., Holmquist, K., Spooner, D. M., & Jansky, S. H. (2011). A test of taxonomic and biogeographic predictivity: resistance to soft rot in wild relatives of cultivated potato. *Phytopathology*, 101(2), 205–12.
76. Correll, D. S. (1962). *The potato and its wild relatives*. Texas Research Foundation, Renner.
77. Dandurand, L. M., Zasada, I. A., Wang, X., Mimee, B., De Jong, W., Novy, R., Whitworth, J., & Kuhl, J. C. (2019). Current Status of Potato Cyst Nematodes in North America. *Annual Review of Phytopathology*, 57, 117–133. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100254>
78. Danso, K. E., Azu, E., Elegba, W., Asumeng, A., Amoatey, H. M. e. K., & P, G. Y. (2011). Décontamination efficace et régénération ultérieure de plantules de canne à sucre (*Saccharum officinarum* L.) in vitro. *International Journal of Integrative Biology*, 11, 90–96.
79. Das, A., Gosal, S. S., Sidhu, J. S., & Dhaliwal, H. S. (2000). Induction of mutations for heat tolerance in potato by using in vitro culture and radiation. *Euphytica*, 114(3), 205–209. <https://doi.org/10.1023/A:1003965724880>
80. Davis, J. A., Radcliffe, E. B., Thill, C. A., & Ragsdale, D. W. (2012). Resistance to aphids, late blight and viruses in somatic fusions and crosses of *Solanum tuberosum* L. And *Solanum Bulbocastanum* Dun. *Am J Potato Res*, 89(6), 489–500.
81. De Galarreta, J. I. R., Carrasco, A., Salazar, A., Barrena, I., Iturrutxa, E., Marquinez, R., Legorburu, F.J., & Ritter, E. (1998). Wild *Solanum* species as resistance sources against different pathogens of potato. *Potato Res*, 41(1), 57–68. <http://doi.org/10.1007/BF02360262>
82. Delaplace, P., Brostaux, Y., Fauconnier, M. L., & Jardin, P. du. (2008). Potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber physiological age index is a valid reference frame in postharvest ageing studies. *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.03.002>
83. Demirel, U., Morris, W. L., Ducreux, L. J. M., Yavuz, C., Asim, A., Tindas, I., Campbell, R., Morris, J. A., Verrall, S. R., Hedley, P. E., Gokce, Z. N. O., Caliskan, S., Aksoy, E., Caliskan, M. E., Taylor, M. A., & Hancock, R. D. (2020). Physiological, biochemical, and transcriptional responses to single and combined abiotic stress in stress-tolerant and stress-sensitive potato genotypes. *Frontiers in Plant Science*, 11, 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00169>

84. Devaux, A., Goffart, J. P., Kromann, P., Andrade-Piedra, J., Polar, V., & Hareau, G. (2021). The Potato of the Future: Opportunities and Challenges in Sustainable Agri-food Systems. In *Potato Research* (Vol. 64, Issue 4, pp. 681–720). <https://doi.org/10.1007/s11540-021-09501-4>
85. Dewir, Y. H., Nurmansyah, Naidoo, Y., & Teixeira da Silva, J. A. (2018). Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures. *Plant Cell Reports*, 37(11), 1451–1470. <https://doi.org/10.1007/s00299-018-2326-1>
86. Dhital, S. P., & Lim, H. T. (2012). Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) as Influenced by Supplementary Nutrients, Plant Growth Regulators, and In Vitro Culture Conditions. *Potato Research*, 55(2), 97–108. <https://doi.org/10.1007/s11540-012-9212-y>
87. Dimitrova, N., Nacheva, L., & Berova, M. (2016). Effect of meta-topolin on the shoot multiplication of pear rootstock OHF-333 (*Pyrus communis* L.). *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus*, 15(2), 43–53.
88. Diop, P., Sylla, E. S., Diatte, M., Labou, B., & Diarra, K. (2019). Effect of cut seed tubers and pre-germination on potato tuber yield. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 13(7), 3157–3163. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i7.15>
89. Dita Rodriguez, M. A., Brommonschenkel, S. H., Matsuoka, K., & Mizubuti, E. S. G. (2006). Components of resistance to early blight in four potato cultivars: Effect of leaf position. *Journal of Phytopathology*, 154(4), 230–235. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2006.01089.x>
90. Djaman, K., Irmak, S., Koudahe, K., & Allen, S. (2021). Irrigation Management in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Production: A Review. *Sustainability*, 13, 1504. <https://doi.org/10.3390/su13031504>
91. Djebbour.F .Z. (2015). Evaluation de l'état d'infestation de quelques parcelles par les nématodes à kystes Globodera de la pomme de terre-Enquête sur ces parasites dans la région d'Ain Defla. Mémoire d'ingénieur en Agronomie, Université de Khemis Miliana, 74 p.
92. Dobranszki, J., Tabori, K. M., & Hudak, I. (2008). *In vitro* tuberization in hormone-free systems on solidified medium and dormancy of potato microtubers. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 2, 82–94.
93. Donnelly, D. J., Coleman, W. K., & Coleman, S. E. (2003). Potato microtuber production and performance: A review. *American Journal of Potato Research*, 80(2), 103–115. <https://doi.org/10.1007/BF02870209>
94. Douches, D. S., Maas, D., Jastrzebski, K., & Chase, R. W. (1996). Assessment of potato breeding progress in the USA over the last century. *Crop Science*, 36(6), 1544–1552. <https://doi.org/10.2135/cropsci1996.0011183X003600060024x>
95. Duan, Y., Liu, J., Xu, J., Bian, C., Duan, S., Pang, W., Hu, J., Li, G., & Jin, L. (2019). DNA Fingerprinting and Genetic Diversity Analysis with Simple Sequence Repeat Markers of 217 Potato Cultivars (*Solanum tuberosum* L.) in China. *American Journal of Potato Research*, 96(1), 21–32. <https://doi.org/10.1007/s12230-018-9685-6>
96. Dutt, S., Manjul, A. S., Raigond, P., Singh, B., Siddappa, S., Bhardwaj, V., Kawar, P. G., Patil, V. U., & Kardile, H. B. (2017). Key players associated with tuberization in potato: potential candidates for genetic engineering. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(7), 942–957. <https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1274876>
97. Ebadi, M., Iranbakhsh, A., & Khaniki, G. B. (2007). Shoot micropropagation and microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) by the semi-continuous bioreactor. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(6), 861–867. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2007.861.867>

- 98.** Ebadi, M., & Iranbakhsh, A. (2011). The induction and growth of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers (sante cultivar) in response to the different concentrations of 6-benzylaminopurine and sucrose. *African Journal of Biotechnology*, *10*(52), 10626–10635. <https://doi.org/10.5897/ajb11.047>
- 99.** ECPD.(2021). European Cultivated Potato Database-Online database of potato varieties cultivated in European Union (<http://www.europotato.org/menu.php>, accessed 09 Aug 2021).
- 100.** El-Banna, A. N., El-Mahrouk, M. E., Dewir, Y. H., Farid, M. A., Elyazid, D. M. A., & Schumacher, H. M. (2021). Endophytic bacteria in banana in vitro cultures: Molecular identification, antibiotic susceptibility, and plant survival. *Horticulturae*, *7*(12), 526. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120526>
- 101.** Erişen, S., Kurt-Gür, G., & Servi, H. (2020). In vitro propagation of *Salvia sclarea* L. by meta-Topolin, and assessment of genetic stability and secondary metabolite profiling of micropropagated plants. *Industrial Crops and Products*, *157*, 112892. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112892>
- 102.** Eviatar-Ribak, T., Shalit-Kaneh, A., Chappell-Maor, L., Amsellem, Z., Eshed, Y., & Lifschitz, E. (2013). A cytokinin-activating enzyme promotes tuber formation in tomato. In *Current Biology* (Vol. 23, Issue 12, pp. 1057–1064). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.061>
- 103.** Faccioli, G., & Colombarini, A. (1996). Correlation of potato virus S and virus M contents of potato meristem tips with the percentage of virus-free plantlets produced in vitro. *Potato Research*, *39*(1), 129–140. <https://doi.org/10.1007/bf02358213>
- 104.** Farré, E. M., Bachmann, A., Willmitzer, L., & Trethewey, R. N. (2001). Acceleration of potato tuber sprouting by the expression of a bacterial pyrophosphatase. *Nature Biotechnology*, *19*(3), 268–272. <https://doi.org/10.1038/85726>
- 105.** Fatima, B., Usman, M., Ahmad, I., & Khan, I. A. (2005). Effect of Explant and Sucrose on Microtuber Induction in Potato Cultivars. *International Journal of Agriculture & Biology*, *1*, 63–66.
- 106.** Feng, X., Zhao, P., Hao, J., Hu, J., Kang, D., & Wang, H. (2011). Effects of sorbitol on expression of genes involved in regeneration of upland rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *106*(3), 455–463. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-9943-5>
- 107.** Fidalgo, F., Santos, A., Santos, I., & Salema, R. (2004). Effects of long-term salt stress on antioxidant defence systems, leaf water relations and chloroplast ultrastructure of potato plants. *Annals of Applied Biology*, *145*(2), 185–192. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00374.x>
- 108.** Fish, N., Karp, A., & Jones, M. G. K. (1988). Production of somatic hybrids by electrofusion in *Solanum*. *Theoretical and Applied Genetics*, *76*(2), 260–266. <https://doi.org/10.1007/BF00257854>
- 109.** Foukaraki, S. G., Cools, K., Chope, G. A., & Terry, L. A. (2016). Impact of ethylene and 1-MCP on sprouting and sugar accumulation in stored potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, *114*, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.013>
- 110.** Gautam, S., Solis-Gracia, N., Teale, M. K., Mandadi, K., Silva, J. A. d., & Vales, M. I. (2021). Development of an in vitro Microtuberization and Temporary Immersion Bioreactor System to Evaluate Heat Stress Tolerance in Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Frontiers in Plant Science*, *12*(700328). <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.700328>
- 111.** Genin, S., & Denny, T. P. (2012). Pathogenomics of the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Annual Review of Phytopathology*, *50*, 67–89. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-173000>

- 112.** Gentile, A., Jàquez Gutiérrez, M., Martínez, J., Frattarelli, A., Nota, P., & Caboni, E. (2014). Effect of meta-Topolin on micropropagation and adventitious shoot regeneration in Prunus rootstocks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 118(3), 373–381. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0489-1>
- 113.** Ghosh, S. C., Asanuma, K. I., Kusutani, A., & Toyota, M. (2001). Effect of salt stress on some chemical components and yield of potato. *Soil Science and Plant Nutrition*, 47(3), 467–475. <https://doi.org/10.1080/00380768.2001.10408411>
- 114.** Ghotbi-Ravandi, A. A., Shahbazi, M., Shariati, M., & Mulo, P. (2014). Effects of mild and severe drought stress on photosynthetic efficiency in tolerant and susceptible barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 200(6), 403–415. <https://doi.org/10.1111/jac.12062>
- 115.** Golmirzaie, A., Malagamba, P., & Pallais, N. (1994). Breeding potatoes based on true seed propagation. In J. E. Bradshaw & G. E. Mackay (Eds.), *Potato Genetics* (pp. 499–512). CAB International.
- 116.** Goodwin, S. B., & Drenth, A. (1997). Origin of the A2 Mating Type of Phytophthora infestans Outside Mexico. *Phytopathology*, 87(10), 992–999. <https://doi.org/10.1094/phyto.1997.87.10.992>
- 117.** Gopal, J., Minocha, J. L., & Dhaliwal, H. S. (1998). Microtuberization in potato. *Solanum Tuberosum L.* *Plant Cell Reports*, 17(10), 794–798. <https://doi.org/10.1007/s002990050485>
- 118.** Gopal, J., Iwama, K., & Jitsuyama, Y. (2008). Effect of water stress mediated through agar on in vitro growth of potato. In *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* (Vol. 44, Issue 3, pp. 221–228). <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9102-1>
- 119.** Gosal, S. S., & Wani, S. H. (2018). Biotechnologies of Crop Improvement. In *Biotechnologies of Crop Improvement* (Vol. 1). Cellular Approaches. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-78283-6>
- 120.** Graves, C. (2001). The Potato, Treasure of the Andes. From Agriculture to Culture. *International Potato Center*, 208.
- 121.** Gray, S., De Boer, S., Lorenzen, J., Karasev, A., Whitworth, J., Nolte, P., Singh, R., Boucher, A., & Xu, H. (2010). Potato virus Y: An evolving concern for potato crops in the United States and Canada. *Plant Disease*, 94(12), 1384–1397. <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-10-0124>
- 122.** Grishchenko, O. V, Subbotin, E. P., Gafitskaya, I. V, Vereshchagina, Y. V, Burkovskaya, E. V, Khrolenko, Y. A., Grigorchuk, V. P., Nakonechnaya, O. V, Bulgakov, V. P., & Kulchin, Y. N. (2021). Growth of Micropropagated *Solanum tuberosum* L. Plantlets under Artificial Solar Spectrum and Different Mono- and Polychromatic LED Lights, *Horticultural Plant Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.04.007>
- 123.** Grun, P. (1990). The evolution of cultivated potatoes. *Econ. Bot*, 44, 39–55.
- 124.** Guan, S. H., Sattler, I., Lin, W. H., Guo, D. A. e. G., & S. (2005). Acides P-Aminoacétophénoniques produits par un endophyte de mangrove: *Streptomyces griseus* subspecies. *Journal of Natural Products*, 68, 1198–1200.
- 125.** Guedes, M. L., Haynes, K. G., Vinyard, B. T., & Pinto, C. A. B. P. (2019). Heat tolerance in diploid wild potato species *in vitro*. *American Journal of Potato Research*, 96(3), 294–302. <https://doi.org/10.1007/s12230-019-09716-9>
- 126.** Guo, B., Abbasi, B. H., Zeb, A., Xu, L. L., & Wei, Y. H. (2011). Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *Afr. J. Biotechnol*, 10, 8984–9000.

- 127.** Halmagyi, A., Deliu, C., Coste, A., Keul, M., Cheregi, O., & Cristea, V. (2004). Vitriification of potato shoot tips for germplasm cryopreservation. *Contrib Bot*, *39*, 187–193.
- 128.** Halterman, D., Guenther, J., Collinge, S., Butler, N., & Douches, D. (2016). Biotech Potatoes in the 21st Century: 20 Years Since the First Biotech Potato. *American Journal of Potato Research*, *93*(1), 1–20. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9485-1>
- 129.** Hameed, A., Zaidi, S. S. E. A., Shakir, S., & Mansoor, S. (2018). *Applications of new breeding technologies for potato improvement*. *Frontiers in Plant Science*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00925>
- 130.** Hameed, A., Mehmood, M. A., Shahid, M., Fatma, S., Khan, A., & Ali, S. (2020). Prospects for potato genome editing to engineer resistance against viruses and cold-induced sweetening. *GM Crops Food*, *11*(4), 185–205. doi:10.1080/21645698.2019.1631115
- 131.** Hancock, R. D., Morris, W. L., Ducreux, L. J., Morris, J. A., Usman, M., Verrall Sr, F., J, S., Cg, Z., R, H., Pe, T., & M.a. (2014). *Physiological, biochemical and molecular responses of the potato*.
- 132.** Hanneman, J. R. E. (1994). The testing and release of transgenic potatoes in the North American Center of diversity. In A. F. Krattiger & A. Rosemarin (Eds.), *Biosafety of Sustainable Agriculture: Sharing Biotechnology Regulatory Experiences of the Western Hemisphere* (pp. 47–67).
- 133.** Haverkort, A. J., Ruijter, F. J., Evert, F. K., Conijn, J. G., & Rutgers, B. (2013). Worldwide sustainability hotspots in potato cultivation. *1. Identification and Mapping*. *Potato Res*, *56*, 343–353.
- 134.** Haverkort, A. J., Boonekamp, P. M., Hutten, R., Jacobsen, E., Lotz, L. A. P., Kessel, G. J. T., Vossen, J. H., & Visser, R. G. F. (2016). Durable late blight resistance in potato through dynamic varieties obtained by cisgenesis: scientific and societal advances in the durph project. *Potato Research*, *59*(1), 35–66. <https://doi.org/10.1007/s11540-015-9312-6>
- 135.** Hawkes, J. G. (1994). Origins of cultivated potatoes and species relationships. CAB International.
- 136.** Herrera-Isidron, L., Valencia-Lozano, E., Rosiles-Loeza, P. Y., Robles-Hernández, M. G., Napsuciale-Heredia, A., & Cabrera-Ponce, J. L. (2021). Gene expression analysis of microtubers of potato *Solanum tuberosum* L. Induced in cytokinin containing medium and osmotic stress. *Plants*, *10*(5), 876 10 3390 10050876. <https://doi.org/10.3390/plants10050876>
- 137.** Hirsch, C. N., Hirsch, C. D., Felcher, K., Coombs, J., Zarka, D., Van Deynze, A., De Jong, W., Veilleux, R. E., Jansky, S., Bethke, P., Douches, D. S., & Buell, C. R. (2013). Retrospective view of North American potato (*Solanum tuberosum* L.) breeding in the 20th and 21st centuries. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, *3*(6), 1003–1013. <https://doi.org/10.1534/g3.113.005595>
- 138.** Hoque, M. E. (2010). In vitro tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant OMICS*, *3*(1), 7–11.
- 139.** Hoque, M. E., Hug, H., & Moon, N. J. (2013). Molecular Diversity Analysis in Potato (*Solanum tuberosum* L.) through RAPD Markers. SAARC. *J. Agric*, *11*, 95–102.
- 140.** Hosaka, K. (1986). Who it the mother of the potato? Restriction endonuclease analysis of chloroplast DNA of cultivated potatoes. *Theor. Appl. Genet*, *72*, 606–618.
- 141.** Hossain, M. A., Kawochar, M. A., Al-Mahmoud, E. H. M. A., Rahaman, S., Hossain, M. A., & Nasiruddin, M. K. (2015). Standardization of sucrose and 6-benzyl aminopurine for in vitro micro tuberization of potato. *American Journal of Agriculture and Forest*, *3*(2), 25–30.



- 142.** Hossain, M. S., Hossain, M. M., Haque, M. M., Hossain, T., Zakaria, M., & Sarkar, M. D. (2017a). Varietal performance of potato on induction and development of microtuber in response to sucrose. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(1), 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2017.05.002>
- 143.** Hossain, M. S., Hossain, M. M., Haque, M. M., Haque, M. M., & Sarkar, M. D. (2017b). Varietal evaluation of potato microtuber and plantlet in seed tuber production. *International Journal of Agronomy*, 2017(1–5), 10. <https://doi.org/10.1155/2017/7520297>
- 144.** Howard, H. W. (1970). Genetics of the potato. Logos Press. <https://doi.org/10.1002/star.19700220812>
- 145.** Hussain, S. A., Ahmad, N., & Anis, M. (2018). Synergetic effect of TDZ and BA on minimizing the post-exposure effects on axillary shoot proliferation and assessment of genetic fidelity in *Rauvolfia tetraphylla* (L.). *Rendiconti Lincei*, 29(1), 109–115. <https://doi.org/10.1007/s12210-018-0667-x>
- 146.** Hussien, F. A., Osman, M. A., & Idris, T. I. M. (2014). The Influence of Liquid Media Support, Gelling Agents and Liquid overlays on performance of in vitro Cultures of Ginger (*Zingiber officinale*). *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(1), 2250–3153.
- 147.** Ibrahim, H. (2021). Effect of seed tuber piece size and the number of eyes on growth and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) تأثير حجم و عدد العيون في درنات التقاوى على نمو و محصول البطاطس *Solanum tuberosum* L. *Journal of Plant Production*, 12(7), 757–763. <https://doi.org/10.21608/jpp.2021.187444>
- 148.** Imanparast, F. (2018). Patates üretiminde ön-sürgünlendirmenin önemi ve pozisyonu. In *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* (Vol. 49, Issue 2, pp. 150–156). <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.345820>
- 149.** Islam, M., Hassan, M., Sarker, S., Rahman, A., & Fakir, M. (2017). Light and temperature effects on sprout yield and its proximate composition and vitamin C content in Lignosus and Mung beans. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 15(2), 248–254. <https://doi.org/10.3329/jbau.v15i2.35070>
- 150.** ITCMI. (2018). Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles. La culture de pomme de terre. *Fiches techniques valorisées des cultures maraîchères et industrielles*, Ed. ITCMI. 10p
- 151.** Jacques, C. N., Hulbert, A. K., Westenskow, S., & Neff, M. M. (2020). Production location of the gelling agent phytagel has a significant impact on arabidopsis thaliana seedling phenotypic analysis. *PLOS ONE*, 15(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.>
- 152.** Jannat, A., Ishikawa-Ishiwata, Y., & Furuya, J. (2021). Assessing the impacts of climate variations on the potato production in bangladesh: A supply and demand model approach. In *Sustainability (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 9, p. 5011–5039). <https://doi.org/10.3390/su13095011>
- 153.** Jannie, H. (2012). Different pre-sprouting methods for early tuber harvest in potato (*Solanum tuberosum* L.), *Acta Agriculturae Scandinavica. Section B --- Soil & Plant Science*, 62(2), 125–131. <https://doi.org/10.1080/09064710.2011.583935>
- 154.** Jansky, S. (2000). Breeding for disease resistance in potato. *Plant Breed Rev*, 19, 69–156.
- 155.** Jansky, S. H., & Rouse, D. I. (2003). Multiple disease resistance in interspecific hybrids of potato. *Plant Disease*, 87(3), 266–272. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.3.266>
- 156.** Jansky, S. H., Simon, R., & Spooner, D. M. (2008). A test of taxonomic predictivity: Resistance to early blight in wild relatives of cultivated potato. *Phytopathology*, 98(6), 680–7.

- 157.** Jansky, S. H., Dempewolf, H., Camadro, E. L., Simon, R., Zimnoch-Guzowska, E., Bisognin, D. A., & Bonierbale, M. (2013). A case for crop wild relative preservation and use in potato. *Crop Science*, *53*(3), 746–754. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.11.0627>
- 158.** Jansky, S., Douches, D., & Haynes, K. (2018). Germplasm release: three tetraploid potato clones with resistance to common scab. *American Journal of Potato Research*, *95*(2), 178–182. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9624-y>
- 159.** Jean-Pierre, D. A. G., Athanasios, P., Peter, K., Marcel, G., Julius, O., Victor, S., & Guy, H. (2020). Global food security, contributions from sustainable potato agri-food systems. In C. H. & O. O (Eds.), *The Potato Crop*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_1)
- 160.** Jena, R. C., & Samal, K. C. (2011). Contaminants microbiens endogènes pendant la culture in vitro de la patate douce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam]: Identification et prévention. *J. Agric. Technol*, *7*, 1725–1731.
- 161.** Jennings, S. A., Koehler, A. K., Nicklin, K. J., Deva, C., Sait, S. M., & Challinor, A. J. (2020). Global potato yields increase under climate change with adaptation and CO<sub>2</sub> fertilisation. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *4*(519324). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.519324>
- 162.** Kaczmarczyk, A., Rokka, V. M., & Keller, E. R. J. (2011). Potato shoot tip cryopreservation. A Review. *Potato Research*, *54*(1), 45–79. <https://doi.org/10.1007/s11540-010-9169-7>
- 163.** Kämäräinen-Karppinen, T., Virtanen, E., Rokka, V. M., & Pirttilä, A. M. (2010). Novel bioreactor technology for mass propagation of potato microtubers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *101*(2), 245–249. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9679-7>
- 164.** Kardolus, J. P., Van Eck, H. J., & Van Den Berg, R. G. (1998). The potential of AFLPs in biosystematics: A first application in *Solanum* taxonomy (*Solanaceae*). *Plant Systematics and Evolution*, *210*(1–2), 87–103. <https://doi.org/10.1007/BF00984729>
- 165.** Katsarou, K., Wu, Y., Zhang, R., Bonar, N., Morris, J., Hedley, P. E., Bryan, G. J., Kalantidis, K., & Hornyik, C. (2016). Insight on genes affecting tuber development in potato upon potato spindle tuber viroid (PSTVd) infection. *PLoS ONE*, *11*(3), 150711. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150711>
- 166.** Kaur, A., Reddy, M. S., & Kumar, A. (2017). Efficient, one step and cultivar independent shoot organogenesis of potato. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *23*(2), 461–469. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0418-y>
- 167.** Kaur, K., Singh, P., Kaur, K., Bhandawat, A., Nogia, P., & Pati, P. K. (2021). Development of robust in vitro culture protocol for the propagation of genetically and phytochemically stable plants of *Withania somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha). *Industrial Crops and Products*, *166*, 113428. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113428>
- 168.** Kaur, R. P. (2018). Agro-techniques for production of Hi-tech based planting material (microplants/minitubers) Training on Seed Potato Production (04th April – 13th April, 2018) ICAR-Central Potato Research Institute Shimla-171001. *H. P.*, 69–73.
- 169.** Kaushik, P. (2021). Precision Vegetable Farming Technologies: An Update. *Technology in Agriculture*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.97805>
- 170.** Kawakami, J., Iwama, K., Hasegawa, T., & Jitsuyama, Y. (2003). Growth and yield of potato plants grown from micro tubers in fields. *Am.J. Potato Res.*, *80*, 371–378. <https://doi.org/10.1007/BF02854248>.
- 171.** Kefi, S., Pavlista, A. D., Read, P. E., & Kachman, S. D. (2000). Comparison of thidiazuron and two nitroguanidines to kinetin on potato microtuberization in vitro under short and long days. *Journal of Plant Growth Regulation*, *19*(4), 429–436. <https://doi.org/10.1007/s003440000019>

- 172.** Kerkeni, A., Daari-Remadi, M., & Khedher, M. B. (2013). In vivo evaluation of compost extracts for the control of the potato Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *tuberosi*. *Afr J Plant Sci Biotechnol*, 7(1), 36–41.
- 173.** Khalid, A., & Aftab, F. (2016). Effect of exogenous application of 24-epibrassinolide on growth, protein contents, and antioxidant enzyme activities of in vitro-grown *Solanum tuberosum* L. under salt stress. *Vitro Cellular & Developmental Biology -- Plant*, 52(1), 81–91. <https://doi.org/10.1007/s11627-015-9745-2>
- 174.** Khanam, M. N., Javed, S. Bin, Anis, M., & Alatar, A. A. (2020). meta-Topolin induced in vitro regeneration and metabolic profiling in *Allamanda cathartica* L. *Industrial Crops and Products*, 145, 111944. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111944>
- 175.** Khuri, S., & Moorby, J. (1995). Into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production in vitro. *Ann. Bot*, 75, 295–303.
- 176.** Khuri, S., & Moorby, J. (1996). Nodal segments or microtubers as explants for in vitro microtuber production of potato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 45, 215–222.
- 177.** Kieu, N. P., Lenman, M., & Andreasson, E. (2021). Potato as a Model for Field Trials with Modified Gene Functions in Research and Translational Experiments. *Methods in Molecular Biology*, 2354, 111–122. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1609-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1609-3_5)
- 178.** Kikuchi, A., Huynh, H. D., Endo, T., & Watanabe, K. (2015). Review of recent transgenic studies on abiotic stress tolerance and future molecular breeding in Potato. *Breeding Science*, 65(1), 85–102. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.65.85>
- 179.** Knowles, N. R., & Knowles, L. O. (2006). Manipulating stem number, tuber set, and yield relationships for northern- and southern-grown potato seed lots. *Crop Science*, 46(1), 284–296. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.05-0078>
- 180.** Koda, Y., & Okazawa, Y. (1983). Characteristic Changes in the Levels of Endogenous Plant Hormones in Relation to the Onset of Potato Tuberization. *Japanese Journal of Crop Science*, 52(4), 592–597. <https://doi.org/10.1626/jcs.52.592>
- 181.** Kószeghi, S., Bereczki, C., Balog, A., & Benedek, K. (2014). Comparing the Effects of Benzyladenine and meta-Topolin on Sweet Basil (*Ocimum basilicum*) Micropropagation. *Notulae Scientia Biologicae*, 6(4), 422–427. <https://doi.org/10.15835/nsb649464>
- 182.** Kreuze, J. F., Souza-Dias, J. A. C., Jeevalatha, A., Figueira, A. R., Valkonen, J. P. T., & Jones, R. A. C. (2020). Viral diseases in potato. *The potato crop*, Springer (p. 389). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_11)
- 183.** Kucharska, D., Orlikowska, T., Maciorowski, R., Kunka, M., Wójcik, D., & Pluta, S. (2020). Application of meta-Topolin for improving micropropagation of gooseberry (*Ribes grossularia*). *Scientia Horticulturae*, 272, 109529. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109529>
- 184.** Kumar, R., Tiwari, R. K., Jeevalatha, A., Kaundal, P., Sharma, S., & Chakrabarti, S. K. (2019). Potato viruses and their diagnostic techniques: An overview. *J Pharmacog Phytochem*, 8(6), 1932–44.
- 185.** Kumlay, A. M. (2014). Combination of the auxins NAA, IBA, and IAA with GA3 improves the commercial seed-tuber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) under in vitro conditions. *BioMed Research International*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/439259>
- 186.** Kwiatkowski, S., Martin, M. W., Brown, C. R., & Sluis, C. J. (1988). Serial microtuber formation as a long-term conservation method for in vitro potato germplasm. *American Potato Journal*, 65(6), 369–375. <https://doi.org/10.1007/BF02853533>

- 187.** Laferriere, L. T., Helgeson, J. P., & Allen, C. (1999). Fertile *Solanum tuberosum* + *S. commersonii* somatic hybrids as sources of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(8), 1272–1278. <https://doi.org/10.1007/s001220051193>
- 188.** Lalthafamkimi, L., Bhattacharyya, P., Bhau, B. S., Wann, S. B., & Banik, D. (2020). Direct organogenesis mediated improvised mass propagation of *Pogostemon cablin*: A natural reserve of pharmaceutical biomolecules. *South African Journal of Botany*, 140, 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.018>
- 189.** Lara, R. M., Lorigo, M., Plana, D., More, O., Gonzalez, M. E., Alvarez, M., & Hernandez, M. M. (2003). Isoenzymatic analysis for detecting in vitro variability and/or stability of economically important crops. *Cultivos Tropicales*, 24(3), 39–47.
- 190.** Leclerc, Y., Donnelly, D. J., & Seabrook, J. E. A. (1994). Microtuberization of layered shoots and nodal cuttings of potato: The influence of growth regulators and incubation periods. *Plant Cell. Tissue Organ. Cult.* 37, 113–120. <https://doi.org/10.1007/BF00043604>
- 191.** Lee, K. J., Sebastin, R., Cho, G. T., Yoon, M., Lee, G. A., & Hyun, D. Y. (2021). Genetic diversity and population structure of potato germplasm in rda-genebank: Utilization for breeding and conservation. *Plants*, 10(4), 752 10 3390 10040752. <https://doi.org/10.3390/plants10040752>
- 192.** Lemos, E. E. P., & Baker, D. A. (1998). Shoot regeneration in response to carbon source on internodal explants of *Annona muricata* L. *Plant Growth Regulation*, 25(2), 105–112. <https://doi.org/10.1023/A:1006058301707>
- 193.** Levy, J., & Tamborindeguy, C. (2014). *Solanum habrochaites*, a potential source of resistance against bactericera cockerelli (Hemiptera: Triozidae) and “candidatus liberibacter solanacearum.” *Journal of Economic Entomology*, 107(3), 1187–1193. <https://doi.org/10.1603/EC13295>
- 194.** Li, J., Cang, Z., Jiao, F., Bai, X., Zhang, D., & Zhai, R. (2017). Influence of drought stress on photosynthetic characteristics and protective enzymes of potato at seedling stage. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(1), 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.03.001>
- 195.** Li, R., You, J., Miao, C., Kong, L., Long, J., Yan, Y., Xu, Z., & Liu, X. (2020). Monochromatic lights regulate the formation, growth, and dormancy of *in vitro*-grown *Solanum tuberosum* L. microtubers. *Scientia Horticulturae*, 261(108947). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108947>
- 196.** Li, X., Tambong, J., Yuan, K. X., Chen, W., Xu, H., & Lévesque, C. A. (2018). Re-classification of *Cla vibacter michiganensis* subspecies on the basis of whole-genome and multi-locus sequence analyses. *Int J Syst Evol Microbiol*, 68(1).
- 197.** Linnaeus, C. (1753). *Species plantarum* (Vol. 2). Salvius, Stockholm.
- 198.** Lo, F. M., Irvine, B. R., & Barker, W. G. (1972). *In vitro* tuberization of the common potato (*Solanum tuberosum* L.) is not a response to the osmotic concentration of the medium. *Canadian Journal of Botany*, 50(3), 603–605. <https://doi.org/10.1139/b72-074>
- 199.** Lu, C. Y. (1993). The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 29(2), 92–96. <https://doi.org/10.1007/BF02632259>
- 200.** Machida-Hirano, R. (2015). Diversity of potato genetic resources. *Breeding Science*, 65(1), 26–40. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.65.26>
- 201.** Magdalena, G., & Dariusz, M. (2018). Losses during storage of potato varieties in relation to weather conditions during the vegetation period and temperatures during long-term storage. *American Journal of Potato Research*, 95(2), 130–138. <https://doi.org/10.1007/s12230-017-9617-x>

- 202.** Magyar-Tábori, K., Dobránszki, J., da Silva, J. A. T., Bulley, S. M., & Hudák, I. (2010). The role of cytokinins in shoot organogenesis in apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *101*(3), 251–267. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9696-6>
- 203.** Mahfouz, M. M., Cardi, T., & Neal Stewart Jr, C. (2016). Next-generation Precision Genome Engineering and Plant Biotechnology. *Plant Cell Rep*, *35*, 1397–1399. <https://doi.org/10.1007/s00299-016-2009-8>
- 204.** Mahgoouh, H. A. M., Eisa, G. S. A., & Youssef, M. A. H. (2015). Molecular, biochemical and anatomical analysis of some potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars growing in Egypt. *J. Genet. Eng. Biotech*, *13*, 39–49.
- 205.** Malhi, G. S., Kaur, M., & Kaushik, P. (2021). Impact of climate change on *Solanum tuberosum* - a promising crop for starvation problem agriculture and its mitigation strategies: A Review. *Sustainability*, *13*, 1318.
- 206.** Mamiya, K., Tanabe, K., & Onishi, N. (2020). Production of potato (*Solanum tuberosum* L.) microtubers using plastic culture bags. *Plant Biotechnology*, *37*(2), 233–238. <https://doi.org/10.5511/PLANTBIOTECHNOLOGY.20.0312A>
- 207.** Mani, F., Mhamdi, M., Bettaieb, T., & Hannachi, C. (2014). Shoot regeneration, micropropagation and microtuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars. *Journal of New Sciences*, *7*, 10–8.
- 208.** Mensuali-Sodi, A., Panizza, M., Serra, G., & Tognoni, F. (1993). Involvement of activated charcoal in the modulation of abiotic and biotic ethylene levels in tissue cultures. *Scientia Horticulturae*, *54*(1), 49–57. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(93\)90082-2](https://doi.org/10.1016/0304-4238(93)90082-2)
- 209.** Mes, M. G., & Menge, I. (1954). Potato Shoot and Tuber Cultures In Vitro. *Physiologia Plantarum*, *7*(4), 637–649. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1954.tb07724.x>
- 210.** Mezzetti, B., Coute, L. S., & Rosati II, P. A. *deliciosa* I. V. (1991). Growth and exogenous carbohydrate utilization by explants. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, *26*, 153–160.
- 211.** Millam, S., & Sharma, S. K. (2007). Soil-free techniques. In: Vreugdenhil D (Ed) *Potato biology and biotechnology: advances and perspectives*. Elsevier, Amsterdam. 822p.
- 212.** Miller, J. T., & Spooner, D. M. (1999). Collapse of species boundaries in the wild potato *Solanum brevicaulis* complex (*Solanaceae*, S. sect. *Petota*): Molecular data. *Plant Systematics and Evolution*, *214*(1–4), 103–130. <https://doi.org/10.1007/BF00985734>
- 213.** Mills, H. A., & Jones Jr, J. B. (1996). *Plant analysis Handbook II: A Practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. micro-macro publishing: Athens, Greece, ISBN 1878148052.
- 214.** Misra, P., Gupta, N., Toppo, D. D., Pandey, V., Mishra, M. K., & Tuli, R. (2009). Establishment of long-term proliferating shoot cultures of elite *Jatropha curcas* L. by controlling endophytic bacterial contamination. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *100*(2), 189–197. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9636-5>
- 215.** Moeini, M. J., Armin, M., Asgharipour, M. R., & Yazdi, S. K. (2011). Effects of different plant growth regulators and potting mixes on micro-propagation and mini-tuberization of potato plantlets. *Advances in Environmental Biology*, *5*(4), 631–638.
- 216.** Momena, K., Adeeba, R., Mehraj, H., Jamal Uddin, A. F. M., Islam, S., & Rahman, L. (2014). *In Vitro* Microtuberization of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivar through Sucrose and Growth Regulator. *Journal of Bioscience and Agriculture Research*, *2*(2), 76–82. <https://doi.org/10.18801/jbar.020214.22>

- 217.** Monteiro, T. R., Freitas, E. O., Nogueira, G. F., & Scherwinski-Pereira, J. E. (2018). Assessing the influence of subcultures and liquid medium during somatic embryogenesis and plant regeneration in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *93*(2), 196–203. <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1360156>
- 218.** Mora, V., Ramasamy, M., Damaj, M. B., Irigoyen, S., Ancona, V., Ibanez, F., Avila, C. A., & Mandadi, K. K. (2021). Potato Zebra Chip: An Overview of the Disease, Control Strategies, and Prospects. *Frontiers in Microbiology*, *12*(700663). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.700663>
- 219.** Mora, V., Ramasamy, M., Damaj, M. B., Irigoyen, S., Ancona, V., Ibanez, F., Avila, C. A., & Mandadi, K. K. (2021). Potato zebra chip: an overview of the disease, control strategies, and prospects. *Frontiers in Microbiology*, *12*(700663). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.700663>
- 220.** Morel, G., & Wetmore, R. H. (1951). Tissue culture of monocotyledons. *American Journal of Botany*, *38*(2), 138–140. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1951.tb14803.x>
- 221.** Morris, W. L., & Taylor, M. A. (2010). Tuber development. In *Plant Developmental Biology* (Vol. 1, pp. 137–150). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-02301-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-642-02301-9_7)
- 222.** Msogoya, T., Kanyagha, H., Mutigitu, J., Kulebelwa, M., & Mamiro, D. (2012). Identification et gestion des contaminants microbiens des cultures in vitro de bananes. *J. Appl. Biosci*, *55*, 3987–3994.
- 223.** Munyaneza, J. E. (2012). Zebra Chip Disease of Potato: Biology, Epidemiology, and Management. *American Journal of Potato Research*, *89*(5), 329–350. <https://doi.org/10.1007/s12230-012-9262-3>
- 224.** Murashige, T., & Skoog, G. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, *15*(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb080>
- 225.** Muthoni, J., Mbiyu, M. W., & Nyamongo, D. O. (2010). A Review of potato seed systems and germplasm conservation in Kenya. *Journal of Agricultural and Food Information*, *11*(2), 157–167. <https://doi.org/10.1080/10496501003680565>
- 226.** Muthuraj, R., Singh, B. P., Buckseth, T., Singh, R. K., Singh, S., & Sharma, A. K. (2016). Effect of micro-plants hardening on aeroponic potato seed production. *Potato Journal*, *43*(2), 214–219.
- 227.** Naeem, M., Demirel, U., Yousaf, M. F., Caliskan, S., Caliskan, M. E., & Wehling, P. (2021). Overview on domestication, breeding, genetic gain and improvement of tuber quality traits of potato using fast forwarding technique (GWAS): A review. *Plant Breeding*, *140*(4), 519–542. <https://doi.org/10.1111/pbr.12927>
- 228.** Naik, P. S., & Karihaloo, J. S. (2007). Micropropagation for production of quality potato seed in Asia-Pacific. In *Asia - Pacific Consortium on Agricultural Biotechnology, New Delhi, India* (pp. 47–48).
- 229.** Naik, P. S., Sarkar, D., & Gaur, P. C. (2001). *Potato*. Naya Prakash Publishers.
- 230.** Naik, P. S., & Buckseth, T. (2018). Recent advances in virus elimination and tissue culture for quality potato seed production. In G. S. & W. S (Eds.), *Biotechnologies of Crop Improvement* (Vol. 1, pp. 131–158). Springer, Nature Switzerland AG. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-78283-6\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-78283-6_4)
- 231.** Naqvi, B., Abbas, H., & Ali, H. (2019). L'évaluation in vitro de tubercule induction capacité de deux potato génotypes. *Pakistan Revue Des Sciences de l'Agriculture*, *56*(1), 77–81.
- 232.** Nasri, A., Baklouti, E., Ben Romdhane, A., Maalej, M., Schumacher, H. M., Drira, N., & Fki, L. (2019). Large-scale propagation of Myrobolan (*Prunus cerasifera*) in RITA® bioreactors and

- ISSR-based assessment of genetic conformity. In *Scientia Horticulturae* (Vol. 245, pp. 144–153). <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.016>
- 233.** Nhut, D. T., Nguyen, N. H., & Thuy, D. T. T. (2006). A novel *in vitro* hydroponic culture system for potato (*Solanum tuberosum* L.) microtuber production. *Scientia Horticulturae*, *110*(3), 230–234. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.07.027>
- 234.** Nicolas, M., Torres-Perez, R., Wahl, V., Rodríguez-Buey, M. L., Cruz-Oró, E., Oliveros, J., Prat, S., & Cubas, P. (2021). Spatial control of potato tuberisation by the TCP transcription factor BRANCHED1b. In *Research Square* (PPR212487 ed.). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-69596/v1>
- 235.** Nolte, P., Bertram, M., Bateman, M., & McIntosh, C. S. (2003). Comparative effects of cut and treated seed tubers vs untreated whole seed tubers on seed decay, Rhizoctonia stem canker, growth, and yield of Russet Burbank potatoes. *American Journal of Potato Research*, *80*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/BF02854551>
- 236.** Nouri-Ellouz, O., Triki, M. A., Jbir-Koubaa, R., Louhichi, A., Charfeddine, S., Drira, N., & Gargouri-Bouزيد, R. (2016). Somatic hybrids between potato and *S. berthaultii* show partial resistance to soil-borne fungi and potato virus Y. *Journal of Phytopathology*, *164*(7–8), 485–496. <https://doi.org/10.1111/jph.12474>
- 237.** Nováková, A., Šimáčková, K., Bárta, J., & Čurn, V. (2009). Potato variety identification by molecular markers based on retrotransposon analyses. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, *45*(1), 1–10. <https://doi.org/10.17221/11/2008-cjgpb>
- 238.** Omokolo, N. D., Boudjeko, T., & Takadong, J. J. T. (2003). *In vitro* tuberization of *Xanthosoma sagittifolium* L. Schott: Effects of phytohormones, sucrose, nitrogen and photoperiod. *Scientia Horticulturae*, *98*(4), 337–345. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(03\)00066-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(03)00066-9)
- 239.** Ortiz, R. (2020). Genomic-led potato breeding for increasing genetic gains: Achievements and Outlook. *Crop Breeding, Genetics and Genomics*, *2*, 1–25. <https://doi.org/10.20900/cbgg20200010>
- 240.** Osená, G., Onzere Amugune, N., & Nyaega Nyaboga, E. (2017). Genetic stability of cassava plants regenerated through organogenesis using microsatellite markers. *Journal of Plant Sciences*, *5*(1), 19–28. <https://doi.org/10.11648/j.jps.20170501.13>
- 241.** Otazu, V. (2008). International potato center quality seed potato production using aeoponics. *A potato Production Manual*. Lima Peru, 35 p.
- 242.** Otroshy, M., Nazarian, F., & Struik, P. C. (2009). Effects of temperature fluctuation during *in vitro* phase on *in vitro* microtuber production in different cultivars of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *98*(2), 213–218. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9554-6>
- 243.** Oves, E. V. (2021). Technologies for obtaining and clonal propagation of healthy (Free from infection) parent *in vitro* material and *in vitro* growing of microtubers. In Z. S.V. & A. B.V (Eds.), *Potato Seed Production* (pp. 23–32). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-60762-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-60762-3_3)
- 244.** Ozturk, G., & Yldrm, Z. (2006). The effect of various nutrient media on microtuber production in potato (*Solanum tuberosum* L.) under *in vitro* conditions. *Turkish Journal of Field Crops*, *11*(2), 38–45. <https://doi.org/10.17557/tjfc.49781>
- 245.** Pantelić, D., Dragičević, I., Rudić, J., Fu, J., & Momčilović, I. (2018). Effects of high temperature on *in vitro* tuberization and accumulation of stress-responsive proteins in potato. *Horticulture Environment and Biotechnology*, *59*(3), 315–324. <https://doi.org/10.1007/s13580-018-0043-x>

- 246.** Park, S. W., Jeon, J. H., Kim, H. S., Hong, S. J., Aswath, C., & Joung, H. (2009). The effect of size and quality of potato microtubers on quality of seed potatoes in the cultivar “Superior.” *Scientia Horticulturae*, *120*(1), 127–129. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.09.004>
- 247.** Pereira, J. E. S., & Fortes, G. R. (2004). Production of pre-basic potato plants by cuttings obtained from micropropagated plants. *Horti Brasil*, *22*, 186–192.
- 248.** Pérez, W., Salas, A., Raymundo, R., Huaman, Z., Nelson, R., & Bonierbale, M. (2000). Evaluation of wild potato species for resistance to late blight. *Scientist and Farmer, Partners in Research for the 21st Century*. Program Report 1999-2000. p. 49–62.
- 249.** Pérombelon, M. C. M. (2002). Potato diseases caused by soft rot erwinias: An overview of pathogenesis. *Plant Pathology*, *51*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1046/j.0032-0862.2001.Shorttitle.doc.x>
- 250.** Pieterse, L., & Judd, J. (2014). World catalogue of potato varieties: *welkatalog der kartoffelsorten* (6th Ed.), Erling Verlag.
- 251.** Polzin, F., Sylvestre, I., Déchamp, E., Ilbert, P., Etienne, H., & Engelmann, F. (2014). Effect of activated charcoal on multiplication of African yam (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) nodal segments using a temporary immersion bioreactor (RITA®). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, *50*(2), 210–216. <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9552-6>
- 252.** Powelson, M. L., & Rowe, R. C. (1993). Biology and management of early dying of potatoes. *Annual Review of Phytopathology*, *31*(1), 111–126. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.31.090193.000551>
- 253.** Pruski, K. (2001). Micropropagation technology in early phases of commercial seed potato production. PhD Thesis, Wageningen University. The Netherlands, 166p.
- 254.** Przetakiewicz, J. (2015). The viability of winter Sporangia of *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc. from Poland. *American Journal of Potato Research*, *92*(6), 704–708. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9480-6>
- 255.** Przetakiewicz, J., Nadolska-Orczyk, A., Kuć, D., & Orczyk, W. (2007). Tetraploid somatic hybrids of potato (*Solanum tuberosum* L.) obtained from diploid breeding lines. In *Cellular and Molecular Biology Letters* (Vol. 12, Issue 2, pp. 253–267). <https://doi.org/10.2478/s11658-006-0068-5>
- 256.** Puchta, H. (2017). Applying CRISPR/Cas for genome engineering in plants: the best is yet to come. *Current Opinion in Plant Biology*, *36*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.11.011>
- 257.** Pundir, R. K., Pathak, A., Upadhyaya, D. C., Muthusamy, A., & Upadhyaya, C. P. (2021). Red and blue light-emitting diodes significantly improve in vitro tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Horticultural Research*, *29*(1), 95–108. <https://doi.org/10.2478/johr-2021-0010>
- 258.** Quezel P., & Santa. S. (1962). Nouvelle Flore de l’Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, CNRS, Tome I et II, 1170p.
- 259.** Radcliffe, E. B., & Johnson, K. B. (1994). Biology and management of leaf hoppers on potato. *Advances in potato pest biology and management Saint Paul*. In: APS Press. p. 71–82.
- 260.** Rahman, M. H., Haider, S. A., Hossain, M., & Islam, R. (2013). Involvement of jasmonic acid and light periods on potato microtuber growth response. *International Journal of Biosciences (IJB)*, *3*(5), 87–94. <https://doi.org/10.12692/ijb/3.5.87-94>



- 261.** Rahman, M. H., Azad, M. O. K., Islam, M. J., Rana, M. S., Li, K. H., & Lim, Y. S. (2021). Production of potato (*Solanum tuberosum* L.) seed tuber under artificial led light irradiation in plant factory. *Plants*, *10*(2), 1–17. <https://doi.org/10.3390/plants10020297>
- 262.** Rahman, M. Z., Shahinul Islam, S. M., Chowdhury, A. N., & Subramaniam, S. (2015). Efficient microtuber production of potato in modified nutrient spray bioreactor system. *Scientia Horticulturae*, *192*, 369–374. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.06.014>
- 263.** Rahman, M. Z., Islam, S. M. S., Chowdhury, A. N., & Subramaniam, S. (2017). Identification et prévention des contaminants microbiens de la culture de pommes de terre dans le système de bioréacteur à immersion temporaire (TIB). *Malays. J. Microbiol*, *13*, 289–297.
- 264.** Rahman, M., Islam, R., Hossain, M., & Haider, S. (2008). Differential response of potato under sodium chloride conditions in vitro. *Journal of Bio-Science*, *16*, 79–83.
- 265.** Ranalli, P. (1997). Innovative propagation methods in seed tuber multiplication programmes. *Potato Research*, *40*(4), 439–453. <https://doi.org/10.1007/BF02358004>
- 266.** Ranalli, P. (2007). The canon of potato science: microtubers. *Potato Res*, *50*, 301–304.
- 267.** Raudonius, S. (2017). Application of statistics in plant and crop research: Important issues. *Zemdirb. Agric*, *104*, 377–382.
- 268.** Rodriguez, N. V, Kowalski, B., Rodriguez, L. G., Caraballoso, I. B., Suarez, M. A., Perez, P. O., Quintana, C. R., Gonzalez, N., & Ramos, R. Q. (2007). *In vitro* and *ex vitro* selection of potato plantlets for resistance to early blight. *J Phytopathol*, *155*, 582–586.
- 269.** Rodriguez-Falcon, M., Bou, J., & Prat, S. (2006). Seasonal control of tuberization in potato: conserved elements with the flowering response. *Annu. Rev. Plant Biol*, *57*, 151–180.
- 270.** Rokka, V. M., Laurila, J., Tauriainen, A., Laakso, I., Larkka, J., Metzler, M., & Pietilä, L. (2005). Glycoalkaloid aglycone accumulations associated with infection by *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* in potato species *Solanum acaule* and *Solanum tuberosum* and their interspecific somatic hybrids. *Plant Cell Reports*, *23*(10–11), 683–691. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0868-x>
- 271.** Rokka, V. M., Xu, Y. S., Kankila, J., Kuusela, A., Pulli, S., & Pehu, E. (1994). Identification of somatic hybrids of dihaploid *Solanum tuberosum* lines and *S. brevidens* by species specific RAPD patterns and assessment of disease resistance of the hybrids. *Euphytica*, *80*, 207–217.
- 272.** Rondon, S. I. (2020). Decoding *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the new age of change. *Journal of Integrative Agriculture*, *19*(2), 316–324. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62740-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62740-1)
- 273.** Roque-Borda, C. A., Kulus, D., de Souza, V., A., Kaviani, B., Vicente, & Cryopreservation, E. F. (2021). Cryopreservation of agronomic plant germplasm using vitrification-based methods: An overview of selected case studies. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 6157. <https://doi.org/10.3390/ijms22116157>
- 274.** Roumeliotis, E., Kloosterman, B., Oortwijn, M., Kohlen, W., Bouwmeester, H. J., Visser, R. G. F., & Bachem, C. W. B. (2012). The effects of auxin and strigolactones on tuber initiation and stolon architecture in potato. *Journal of Experimental Botany*, *63*(12), 4539–4548. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers132>
- 275.** Rykaczewska, K. (2013). The impact of high temperature during growing season on potato cultivars with different response to environmental stresses. *American Journal of Plant Sciences*, *04*(12), 2386–2393. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.412295>

- 276.** Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2019). Characterization of cis-elements in hormonal stress-responsive genes in *Oryza Sativa*. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 27(1), 95–102. <https://doi.org/10.35118/apjmabb.2019.027.1.10>
- 277.** Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2021). Phytohormones: plant switchers in developmental and growth stages in potato. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00192-5>
- 278.** Sajid, Z. A., & Aftab, F. (2009). Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. By exogenous application of ascorbic acid. *Vitro Cellular & Developmental Biology -- Plant*, 45(5), 540–549. <https://doi.org/10.1007/s11627-009-9252-4>
- 279.** Sarkar, D., Pandey, S. K., & Sharma, S. (2006). Cytokinins antagonize the jasmonates action on the regulation of potato (*Solanum tuberosum*) tuber formation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 87(3), 285–295. <https://doi.org/10.1007/s11240-006-9166-3>
- 280.** Sarkar, D., Pandey, S. K., & Sharma, S. (2010). High K<sup>+</sup> does not affect potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber induction, but represses its development in vitro. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 46(6), 569–577. <https://doi.org/10.1007/s11627-010-9307-6>
- 281.** Sarkar, D., Tiwari, J. K., Sharma, S., Poonam, Sharma, S., Gopal, J., Singh, B. P., Luthra, S. K., Pandey, S. K., & Pattanayak, D. (2011). Production and characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. pinnatisectum* Dun. In *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (Vol. 107, Issue 3, pp. 427–440). <https://doi.org/10.1007/s11240-011-9993-8>
- 282.** Seabrook, J. E. A., Coleman, S., & Levy, D. (1993). Effect of photoperiod on *in vitro* tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 34(1), 43–51. <https://doi.org/10.1007/BF00048462>
- 283.** Seo, J. H., Naing, A. H., Jeon, S. M., & Kim, C. K. (2018). Anti-freezing protein type III strongly influences the expression of relevant genes in cryopreserved potato shoot tips. *Plant Molecular Biology*, 97(4–5), 347–355. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0743-8>
- 284.** Sergeeva, L. I., Macháčková, I., Konstantinova, T. N., Golyanovskaya, S. A., Eder, J., Zaltsman, O. O., Hanuš, J., & Aksenova, N. P. (1994). Morphogenesis of potato plants in vitro. II. Endogenous levels, distribution, and metabolism of IAA and cytokinins. *Journal of Plant Growth Regulation*, 13(3), 147–152. <https://doi.org/10.1007/BF00196379>
- 285.** Sharma, P. K., Trivedi, R., & Purohit, S. D. (2012). Activated charcoal improves rooting in *in vitro* -derived acacia leucophloea shoots. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 6(1), 10–13.
- 286.** Shekhawat, M. S., Priyadarshini, S., Jogam, P., Kumar, V., & Manokari, M. (2021). Meta-Topolin and liquid medium enhanced *in vitro* regeneration in *Scaevola taccada* (Gaertn.) Roxb. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 57(2), 296–306. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10156-y>
- 287.** Shin, K., Cho, W., Jeon, E., Jeong, H., Seol, E., Park, J., & Lee, Y. (2018). Pretreatment method for directly seeding in vitro microtuber. *United States Patent*.
- 288.** Simmonds, N. W. (1966). Studies of the tetraploid potatoes. III. Progress in the experimental re-creation of the *Tuberosum* Group. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, 59(379), 279–288. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1966.tb00063.x>
- 289.** Singh, A., Kaushal, N., Sharma, R., Bhardwaj, V., Singh, B., & Singh, R. (2016). Effect of elevated temperature on *in vitro* microtuberization of potato genotypes with different thermotolerance levels. *Vegetos*, 29(3), 6–9. <https://doi.org/10.5958/2229-4473.2016.00060.4>

- 290.** Singh, B. N., Pal, S. S., & Prashant, K. (2021). Visiting Potato from a Breeding Perspective: Accomplishments and Prospects, *Solanum tuberosum* - a Promising Crop for Starvation Problem, Prof. *Mustafa Yildiz and Dr. Yasin Ozgen*.
- 291.** Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, *14*(3), 407–426. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9372-8>
- 292.** Smith, A. F. (2012). Potato: A global history. *Reaktion Books*, 142.
- 293.** Smyda, P., Jakuczun, H., Dębski, K., Śliwka, J., Thieme, R., Nachtigall, M., Wasilewicz-Flis, I., & Zimnoch-Guzowska, E. (2013). Development of somatic hybrids *Solanum* × *michoacanum* Bitter.(Rydb.) (+) *S. tuberosum* L. and autofused 4x *S.* × *michoacanum* plants as potential sources of late blight resistance for potato breeding. *Plant Cell Reports*, *32*(8), 1231–1241. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1422-5>
- 294.** Soares, W. S., Plata-Rueda, R. A., Fernandes, M. E. D. S., Fernandes, F. L., Alves, F. M., & Silva, Í. W. Da. (2019). First Record of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) Disseminating *Alternaria solani* (Pleosporaceae) in Potato Crops in Brazil. *Florida Entomologist*, *102*(1), 234–235. <https://doi.org/10.1653/024.102.0139>
- 295.** Sonnewald, S., & Sonnewald, U. (2014). Regulation of potato tuber sprouting. *Planta*, *239*(1), 27–38. <https://doi.org/10.1007/s00425-013-1968-z>
- 296.** Soumare, A., Diédhiou, A. G., Arora, N. K., Tawfeeq Al-Ani, L. K., Ngom, M., Fall, S., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L., & Sy, M. O. (2021). Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. *Frontiers in Microbiology*, *12*(649878). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878>
- 297.** Spiegel, S., Frison, E. A., & Converse, R. H. (1993). Recent developments in therapy and virus-detection procedures for international movement of clonal plant germplasm. *Plant Dis*, *77*, 1176–1180.
- 298.** Spooner, D. M., McLean, K., Ramsay, G., Waugh, R., & Bryan, G. J. (2005). A single domestication for potato based on multilocus amplified fragment length polymorphism genotyping. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, *102*, 14694–14699.
- 299.** Spooner, D. M., Núñez, J., Trujillo, G., Herrera, M. D. R., Guzmán, F., & Ghislain, M. (2007). Extensive simple sequence repeat genotyping of potato landraces supports a major reevaluation of their gene pool structure and classification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *104*(49), 19398–19403. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709796104>
- 300.** Spooner, D. M., Ghislain, M., Simon, R., Jansky, S. H., & Gavrilenko, T. (2014). Systematics, diversity, genetics, and evolution of wild and cultivated potatoes. *Botanical Review*, *80*(4), 283–383. <https://doi.org/10.1007/s12229-014-9146-y>
- 301.** Sprenger, H., Kurowsky, C., Horn, R., Erban, A., Seddig, S., Rudack, K., Fischer, A., Walther, D., Zuther, E., Köhl, K., Hinch, D. K., & Kopka, J. (2016). The drought response of potato reference cultivars with contrasting tolerance. *Plant Cell and Environment*, *39*(11), 2370–2389. <https://doi.org/10.1111/pce.12780>
- 302.** Srivastava, A., Bhardwaj, V., Singh, B. P., & Khurana, S. M. P. (2016). Potato diversity and its genetic enhancement. In: Rajpal VR, Rao SR, Raina SN (eds) Gene Pool Diversity and Crop Improvement, Sustainable Development and Biodiversity. *Springer International Publishing*, Switzerland, pp 187– 226. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-27096-8>

- 303.** Stojičić, D., Tošić, S., Stojanović, G., Zlatković, B., Jovanović, S., Budimir, S., & Uzelac, B. (2022). Volatile organic compound composition and glandular trichome characteristics of in vitro propagated *Clinopodium pulegium* (Rochel) Bräuchler: Effect of carbon source. *Plants*, *11*(2), 198. <https://doi.org/10.3390/plants11020198>
- 304.** Strygina, K. V., Kochetov, A. V., & Khlestkina, E. K. (2019). Genetic control of anthocyanin pigmentation of potato tissues. *BMC Genetics*, *20*(27), 10 1186 12863–019–0728–. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0728-x>
- 305.** Sukhotu, T., & Hosaka, K. (2006). Origin and evolution of *Andigena* potatoes revealed by chloroplast and nuclear DNA markers. In *Genome* (Vol. 49, Issue 6, pp. 636–647). <https://doi.org/10.1139/G06-014>
- 306.** Swaminathan, M. S., & Magoon, M. L. (1961). Origin and cytogenetics of the commercial potato. *Advances in Genetics*, *10*(C), 217–256. [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(08\)60118-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(08)60118-2)
- 307.** Takahashi, D., Li, B., Nakayama, T., Kawamura, Y., & Uemura, M. (2013). Plant plasma membrane proteomics for improving cold tolerance. *Frontiers in Plant Science*, *4*(APR). <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00090>
- 308.** Tan, M. Y. A., Hutten, R. C. B., Celis, C., Park, T. H., Niks, R. E., Visser, R. G. F., & Van Eck, H. J. (2008). The RPi-mcd1 locus from *Solanum microdontum* involved in resistance to *Phytophthora infestans*, causing a delay in infection, maps on potato chromosome 4 in a cluster of NBS-LRR genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *21*(7), 909–918. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-7-0909>
- 309.** Tao, G. Q., Letham, D. S., Yong, J. W. H., Zhang, K., John, P. C. L., Schwartz, O., Wong, S. C., & Farquhar, G. D. (2010). Promotion of shoot development and tuberisation in potato by expression of a chimaeric cytokinin synthesis gene at normal and elevated CO<sub>2</sub> levels. *Functional Plant Biology*, *37*(1), 43–54. <https://doi.org/10.1071/FP07032>
- 310.** Tapia, M. d. L., Arbizu, C., Beraún, F., J., L., & Escalona, M. (2018). Pre-basic seed potato (*Solanum tuberosum* L.) production using temporary immersion bioreactors. *Peruvian Journal of Agronomy*, *2*(1), 9. <https://doi.org/10.21704/pja.v2i1.1127>
- 311.** Tarwacka, J., Polkowska-Kowalczyk, L., Kolano, B., Śliwka, J., & Wielgat, B. (2013). Interspecific somatic hybrids *Solanum villosum* (+) *S. tuberosum*, resistant to *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology*, *170*(17), 1541–1548. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2013.06.013>
- 312.** Teng, Y., Zhang, Y., Guo, J. T., Gao, Y. L., & Li, K. H. (2019). Acid pretreatment improves microtuberization of potato plantlets. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, *55*(1), 36–43. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-09950-6>
- 313.** Thieme, R., Rakosy-Tican, E., Gavrilenko, T., Antonova, O., Schubert, J., Nachtigall, M., Heimbach, U., & Thieme, T. (2008). Novel somatic hybrids (*Solanum tuberosum* L. + *Solanum tarnii*) and their fertile BC<sub>1</sub> progenies express extreme resistance to potato virus Y and late blight. *Theoretical and Applied Genetics*, *116*(5), 691–700. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0702-2>
- 314.** Thind, S. K., Ghai, M., & Gosal, S. S. (2005). Factors affecting in vitro growth of meristem TIP-derived plantlets of *Solanum tuberosum* L. CVS. *Phytomorphology: An International Journal of Plant Morphology*, *55*(3–4), 211–220.
- 315.** Thomas, T. D. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, *26*(6), 618–631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>
- 316.** Thornton, M. (2020). Potato growth and development. In S. J., T. M., & N. P. (Eds.), *Potato Production Systems* (pp. 19–33). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-39157-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-39157-7_2)

- 317.** Tiwari, J. K., Sarkar, P. D., Pandey, S. K., Gopal, J., & Kumar, S. R. (2010). Molecular and morphological characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. etuberosum* Lindl. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 103(2), 175–187. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9765-x>
- 318.** Tiwari, J. K., Poonam, Kumar, V., Singh, B. P., Sharma, S., Luthra, S. K., & Bhardwaj, V. (2013). Evaluation of potato somatic hybrids of dihaploid *S. tuberosum* (+) *S. pinnatisectum* for late blight resistance. *Potato Journal*, 40(2), 176–179.
- 319.** Tiwari, J. K., Chandel, P., Singh, B. P., & Bhardwaj, V. (2014). Analysis of plastome and chondriome genome types in potato somatic hybrids from. *Solanum tuberosum* x *Solanum etuberosum*. *Genome*, 57(29), 35.
- 320.** Tiwari, J. K., Devi, S., Sundaresha, S., Chandel, P., Ali, N., Singh, B., Bhardwaj, V., Singh, B. P., & Gulick, P. (2015). Microarray analysis of gene expression patterns in the leaf during potato tuberization in the potato somatic hybrid *Solanum tuberosum* and *Solanum etuberosum*. *Genome*, 58(6), 305–313. <https://doi.org/10.1139/gen-2014-0191>
- 321.** Tiwari, J. K., Devi, S., Ali, N., Luthra, S. K., Kumar, V., Bhardwaj, V., Singh, R. K., Rawat, S., & Chakrabarti, S. K. (2018). Progress in somatic hybridization research in potato during the past 40 years. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 132(2), 225–238. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1327-z>
- 322.** Tiwari, J. K., Challam, C., Chakrabarti, S. K., & Feingold, S. E. (2020). Climate-smart potato: An integrated breeding, genomics, and phenomics approach. In C. Kole (Ed.), *Genomic Designing of Climate-Smart Vegetable Crops*. Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-97415-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-97415-6_1)
- 323.** Uchendu, E. E., Shukla, M., Saxena, P. K., & Keller, J. E. R. (2016). Cryopreservation of potato microtubers: the critical roles of sucrose and desiccation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 124(3), 649–656. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0916-y>
- 324.** Ugent, D. (1968). The potato in Mexico: Geography and primitive culture. *Economic Botany*, 22(2), 109–123. <https://doi.org/10.1007/BF02860554>
- 325.** Uranbey, S., Köm, D., Akdoğan, G., Ahmed, H. A. A., Koçak, N., & Kara, M. E. (2017). The effects of salt stress on expression of *Asg1* gene related stomatal resistance in potato. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30(3), 235–238.
- 326.** Valle, M., Villalobus, O. F., Castillo, C. M., Cruz, E. J., López, H. A., Yamamoto, S., Watanabe, K., & Niino, T. (2017). Improvement of the D cryo-plate protocol applied to practical cryopreservation of in vitro grown potato shoot tips. *Horticulture*, J86, 222–228.
- 327.** Van Den Berg, R. G., Miller, J. T., Ugarte, M. L., Kardolus, J. P., Villand, J., Nienhuis, J., & Spooner, D. M. (1998). Collapse of morphological species in the wild potato *Solanum brevicaulis* complex (*Solanaceae*: Sect. *Petota*). *American Journal of Botany*, 85(1), 92–109. <https://doi.org/10.2307/2446559>
- 328.** Veitia-Rodriguez, N., Francisco-Cardoso, J., Perez, J. N., Garcia-Rodriguez, L., Bermudez-Carballosos, I., Garcia-Rodriguez, L., Padron-Montesinos, Y., Orellana-Perez, P., Romero-Quintana, C., & Hernandez, N. (2002). Evaluations in field of somaclones of Irish potatoes (*Solanum tuberosum* Lin.) of the variety Desiree obtained by somaclonal variation and in vitro mutagenesis. *Biotechnol Veget*, 2, 21–26.
- 329.** Venkatasalam, E. P., Pandey, K. K., Singh, B. P., Vandana, T., Sharma, S., Sood, R., & Sharma, A. K. (2013). Efficacité des agents antimicrobiens sur le potentiel de micropropagation in vitro de la pomme de terre. *Potato J*, 40, 45–54.
- 330.** Vollmer, R., Villagaray, R., Cárdenas, J., Castro, M., Chávez, O., Anglin, N. L., & Ellis, D. (2017). A large-scale viability assessment of the potato cryobank at the International Potato Center

- (CIP). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 53(4), 309–317. <https://doi.org/10.1007/s11627-017-9846-1>
- 331.** Vylíčilová, H., Bryksová, M., Matušková, V., Doležal, K., Plíhalová, L., & Strnad, M. (2020). Naturally occurring and artificial n9-cytokinin conjugates: From synthesis to biological activity and back. *Biomolecules*, 10(6), 832. <https://doi.org/10.3390/biom10060832>
- 332.** Wagih, M. E., Adkins, S. W., & Attia, K. (2009). Establishment of mature axillary bud culture of sugarcane and overcoming persistent culture contamination. *Indian Journal of Science and Technology*, 2(1), 18–25. <https://doi.org/10.17485/ijst/2009/v2i1/29365>
- 333.** Wang, P. jen, & Hu, C. yeh.(1982). In vitro mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. *American Potato Journal*, 59(1), 33–37. <https://doi.org/10.1007/BF02854881>
- 334.** Wasserman, L. A., Sergeev, A. I., Vasil'Ev, V. G., Plashchina, I. G., Aksenova, N. P., Konstantinova, T. N., Golyanovskaya, S. A., Sergeeva, L. I., & Romanov, G. A. (2015). Thermodynamic and structural properties of tuber starches from transgenic potato plants grown in vitro and in vivo. *Carbohydrate Polymers*, 125(214–23), 214–223. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.01.084>
- 335.** Weber, B. N. (2009). Breeding for early blight resistance in potato using wild species *Solanum raphanifolium*. *Horticulture, M.S.*, 295.
- 336.** Whitworth, J. L., Selstedt, R. A., Westra, A. A. G., Nolte, P., Duellman, K., & Yellareddygari, S. K. R. (2019). Symptom expression of mainstream and specialty potato cultivars to bacterial ring rot (*Clavi bacter sepedonicus*) and evaluation of in-field detection. *Am J Potato Res*, 96(4), 427–44.
- 337.** Wohleb, C. H., Knowles, N. R., & Pavek, M. J. (2014). Plant growth and development. In R. Navarre & M. J. Pavek (Eds.), *The potato: Botany, production and uses*. CAB International, U.S. Department of Agriculture (pp. 64–82).
- 338.** Wróbel, S. (2015). Assessment of potato microtuber and in vitro plantlet seed multiplication in field conditions - Growth, development and yield. *Field Crops Research*, 178, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2015.03.011>
- 339.** Yamamoto, S. I., Wunna, Rafique, T., Arizaga, M. V., Fukui, K., Gutierrez, E. J. C., Martinez, C. R. C., Watanabe, K., & Niino, T. (2015). The Aluminum Cryo-plate Increases Efficiency of Cryopreservation Protocols for Potato Shoot Tips. *American Journal of Potato Research*, 92(2), 250–257. <https://doi.org/10.1007/s12230-014-9425-5>
- 340.** Yang, X. sun, Su, W. jin, Wang, L. jun, Lei, J., Chai, S. sha, & Liu, Q. chang. (2015). Molecular diversity and genetic structure of 380 sweetpotato accessions as revealed by SSR markers. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(4), 633–641. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60794-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60794-2)
- 341.** Yasmin, S., Shahidul Islam, M., Nasiruddin, K. M., & Samsul Alam, M. (2006). Molecular characterization of potato germplasm by random amplified polymorphic DNA markers. In *Biotechnology* (Vol. 5, Issue 1, pp. 27–31). <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2006.04.001>
- 342.** Ye, M., Peng, Z., Tang, D., Yang, Z., Li, D., Xu, Y., Zhang, C., & Huang, S. (2018). Generation of self-compatible diploid potato by knockout of S-RNase. *Nature Plants*, 4(9), 651–654. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0218-6>
- 343.** Yoon-Ju, W., Kim-Haeng, H., Cho-Eun, G., Ko-Ho, C., Hwang-Hae, S., Park-Young, E., & Engelmann, F. (2007). Cryopreservation of cultivated and wild potato varieties by droplet vitrification procedure. *Acta Horti*, 760, 203–208.

- 344.** Young, N. F., Ferguson, B. J., Antoniadis, I., Bennett, M. H., Beveridge, C. A., & Turnbull, C. G. N. (2014). Conditional auxin response and differential cytokinin profiles in shoot branching mutants. *Plant Physiology*, *165*(4), 1723–1736. <https://doi.org/10.1104/pp.114.239996>
- 345.** Yu, W. C., Joyce, P. J., Cameron, D. C., & McCown, B. H. (2000). Sucrose utilization during potato microtuber growth in bioreactors. *Plant Cell Reports*, *19*(4), 407–413. <https://doi.org/10.1007/s002990050748>
- 346.** Zadoks, J. C. (2008). The potato murrain on the European continent and the revolutions of 1848. *Potato Research*, *51*(1), 5–45. <https://doi.org/10.1007/s11540-008-9091-4>
- 347.** Zaheer, K., & Akhtar, M. H. (2016). Potato Production, Usage, and Nutrition—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *56*(5), 711–721. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.724479>
- 348.** Zaman, M. S., Ali, G. M., Muhammad, A., Farooq, K., & Hussain, I. (2015). In vitro Screening of Salt Tolerance in Potato (*Solanum tuberosum* L.) Varieties. *Sarhad Journal of Agriculture*, *31*(2), 106–113. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2015/31.2.106.113>
- 349.** Zeng, Y., Fulladolsa, A. C., Houser, A., & Charkowski, A. O. (2019). Colorado seed potato certification data analysis shows mosaic and blackleg are major diseases of seed potato and identifies tolerant potato varieties. *Plant Disease*, *103*(2), 192–199. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-18-0484-RE>
- 350.** Zhang, Y., & Donnelly, D. J. (1997). In vitro bioassays for salinity tolerance screening of potato. *Potato Research*, *40*(3), 285–295. <https://doi.org/10.1007/BF02358010>
- 351.** Zhao, M. A., Xhu, Y. Z., Dhital, S. P., Khu, D. M., Song, Y. S., Wang, M. Y., & Lim, H. T. (2005). An efficient cryopreservation procedure for potato (*Solanum tuberosum* L.) utilizing the new ice blocking agent, Supercool X1000. *Plant Cell Rep*, *24*, 477–481.
- 352.** Zhao, N., Yu, X., Jie, Q., Li, H., Li, H., Hu, J., Zhai, H., He, S., & Liu, Q. (2013). A genetic linkage map based on AFLP and SSR markers and mapping of QTL for dry-matter content in sweetpotato. *Molecular Breeding*, *32*(4), 807–820. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9908-y>
- 353.** Zhou, T., Song, B., Liu, T., Shen, Y., Dong, L., Jing, S., Xie, C., & Liu, J. (2019). Phytochrome F plays critical roles in potato photoperiodic tuberization. *Plant Journal*, *98*(1), 42–54. <https://doi.org/10.1111/tpj.14198>
- 354.** Zoteyeva, N., Chrzanowska, M., Flis, B., & Zimnoch-Guzowska, E. (2012). Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *American Journal of Potato Research*, *89*(4), 277–293. <https://doi.org/10.1007/s12230-012-9252-5>

*Annexes* |



## Annexe 1

**Tableau 1.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de TDZ en fonction du nombre de microtubercules (Test de Dancun)

[TDZ] mg.l <sup>-1</sup>	Variétés	Nombre de microtubercules	Groupe homogène
<b>0</b>	Dr	1,00	c
	Sp	1,47	a
<b>0,1</b>	Dr	1,17	abc
	Sp	1,17	abc
<b>0,2</b>	Dr	1,07	bc
	Sp	1,13	bc
<b>0,4</b>	Dr	1,27	abc
	Sp	1,20	abc
<b>1</b>	Dr	1,37	ab
	Sp	1,30	abc

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.**Tableau 2.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de TDZ en fonction du diamètre de microtubercules (Test de Dancun)

[TDZ] mg.l <sup>-1</sup>	Variétés	Diamètre de microtubercules	Groupe homogène
<b>0</b>	Dr	0,57	e
	Sp	0,71	cde
<b>0,1</b>	Dr	0,61	de
	Sp	1,08	bc
<b>0,2</b>	Dr	0,63	de
	Sp	1,38	ab
<b>0,4</b>	Dr	0,61	de
	Sp	1,03	bcd
<b>1</b>	Dr	0,78	cde
	Sp	1,51	a

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.**Tableau 3.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de TDZ en fonction du poids de microtubercules (Test de Dancun)

[TDZ] mg.l <sup>-1</sup>	Variétés	Poids de microtubercules	Groupe homogène
<b>0</b>	Dr	0,36	ab
	Sp	0,08	e
<b>0,1</b>	Dr	0,17	cde
	Sp	0,42	a
<b>0,2</b>	Dr	0,25	bcd
	Sp	0,32	abc
<b>0,4</b>	Dr	0,20	cde
	Sp	0,20	cde
<b>1</b>	Dr	0,14	de
	Sp	0,20	cde

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

**Tableau 4.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de  $mT$  en fonction du nombre de microtubercules (Test de Dancun)

$[mT]mg.l^{-1}$	Variétés	Nombre de microtubercules	Groupe homogène
<b>0</b>	Dr	1,00	c
	Sp	1,47	a
<b>0,5</b>	Dr	1,03	bc
	Sp	1,07	bc
<b>1</b>	Dr	1,03	bc
	Sp	1,27	ab
<b>2</b>	Dr	1,00	c
	Sp	1,07	bc
<b>4</b>	Dr	1,10	bc
	Sp	1,37	a

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

**Tableau 5.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de  $mT$  en fonction du diamètre de microtubercules (Test de Dancun)

$[mT]mg.l^{-1}$	Variétés	Diamètre de microtubercules	Groupe homogène
<b>0</b>	Dr	0,57	cd
	Sp	0,71	bc
<b>0,5</b>	Dr	0,51	d
	Sp	0,65	bcd
<b>1</b>	Dr	0,65	bcd
	Sp	0,74	b
<b>2</b>	Dr	0,57	cd
	Sp	0,63	bcd
<b>4</b>	Dr	0,33	a
	Sp	0,58	cd

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

**Tableau 6.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de  $mT$  en fonction du poids de microtubercules (Test de Dancun)

$[mT]mg.l^{-1}$	Variétés	Poids de microtubercules	Groupe homogène
<b>0</b>	Dr	0,36	a
	Sp	0,08	b
<b>0,5</b>	Dr	0,11	bc
	Sp	0,18	bc
<b>1</b>	Dr	0,21	c
	Sp	0,20	c
<b>2</b>	Dr	0,13	bc
	Sp	0,11	bc
<b>4</b>	Dr	0,10	bc
	Sp	0,15	bc

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

**Tableau 7.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de BAP en fonction du nombre de microtubercules (Test de Dancun)

[BAP]mg.l <sup>-1</sup>	Variétés	Nombre de microtubercules	Groupe homogène
0	Dr	1,00	b
	Sp	1,47	a
1	Dr	1,13	bc
	Sp	1,37	ac
2	Dr	1,20	bc
	Sp	1,30	ac
4	Dr	1,30	ac
	Sp	1,00	b

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

**Tableau 8.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de BAP en fonction du diamètre de microtubercules (Test de Dancun)

[BAP]mg.l <sup>-1</sup>	Variétés	Diamètre de microtubercules	Groupe homogène
0	Dr	0,57	b
	Sp	0,71	c
1	Dr	0,79	c
	Sp	0,52	bd
2	Dr	0,42	d
	Sp	0,46	d
4	Dr	0,31	a
	Sp	0,73	c

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

**Tableau 9.** Détermination des groupes homogènes sur l'influence de différentes concentrations de BAP en fonction du poids de microtubercules (Test de Dancun)

[BAP]mg.l <sup>-1</sup>	Variétés	Poids de microtubercules	Groupe homogène
0	Dr	0,36	a
	Sp	0,08	c
1	Dr	0,19	b
	Sp	0,11	c
2	Dr	0,08	c
	Sp	0,05	c
4	Dr	0,05	c
	Sp	0,05	c

Dr : *Désirée* ; Sp : *Spunta*.

## Annexe 2

**Tableau 1.** Analyse de la variance de l'effet de TDZ sur les caractéristiques morphologiques de deux variétés de la pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*).

	Source	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle	LR	2500,704 <sup>a</sup>	10	250,070	172,075	0,000
	MFR	9,645 <sup>b</sup>	10	0,964	22,835	0,000
	LT	4893,464 <sup>c</sup>	10	489,346	59,257	0,000
	NF	6450,867 <sup>d</sup>	10	645,087	64,350	0,000
	MFT	18,899 <sup>e</sup>	10	1,890	24,067	0,000
	NT	447,097 <sup>f</sup>	10	44,710	165,506	0,000
	DT	270,090 <sup>g</sup>	10	27,009	45,429	0,000
	PT	19,035 <sup>h</sup>	10	1,903	24,141	0,000
TDZ	LR	470,094	4	117,524	80,869	0,000
	MFR	1,949	4	0,487	11,535	0,000
	LT	561,737	4	140,434	17,006	0,000
	NF	417,313	4	104,328	10,407	0,000
	MFT	2,056	4	0,514	6,546	0,000
	NT	1,828	4	0,457	1,692	0,152
	DT	8,806	4	2,201	3,703	0,006
	PT	0,674	4	0,168	2,136	0,076
Variétés	LR	100,804	1	100,804	69,364	0,000
	MFR	0,290	1	0,290	6,870	0,009
	LT	13,739	1	13,739	1,664	0,198
	NF	717,653	1	717,653	71,589	0,000
	MFT	0,106	1	0,106	1,350	0,246
	NT	0,475	1	0,475	1,759	0,186
	DT	18,895	1	18,895	31,782	0,000
	PT	0,030	1	0,030	0,385	0,536
TDZ * Variétés	LR	59,303	4	14,826	10,202	0,000
	MFR	1,119	4	0,280	6,621	0,000
	LT	225,775	4	56,444	6,835	0,000
	NF	563,780	4	140,945	14,060	0,000
	MFT	1,433	4	0,358	4,561	0,001
	NT	2,996	4	0,749	2,772	0,027
	DT	3,886	4	0,972	1,634	0,166
	PT	2,225	4	0,556	7,053	0,000
Total	LR	2922,150	300			
	MFR	21,894	300			
	LT	7288,300	300			
	NF	9358,000	300			
	MFT	41,672	300			
	NT	525,438	300			
	DT	442,504	300			
	PT	41,901	300			

LR : Longueur des racines, MFR : Matière fraîche des racines, LT : longueur de la tige, NF : nombre de feuilles, MFT : Matière fraîche des tiges, NT : Nombre de microtubercules, DT : Diamètre des microtubercules, PT : Poids des microtubercules.

**Tableau 2.** Analyse de la variance de l'effet de *mT* sur les caractéristiques morphologiques de deux variétés de la pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*).

	Source	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle	LR	1785,240 <sup>a</sup>	10	178,524	388,443	0,000
	MFR	276,640 <sup>b</sup>	10	27,664	124,323	0,000
	LT	3635,439 <sup>c</sup>	10	363,544	69,332	0,000
	NF	10993,933 <sup>d</sup>	10	1099,393	81,456	0,000
	MFT	46,786 <sup>e</sup>	10	4,679	11,539	0,000
	NT	397,333 <sup>f</sup>	10	39,733	203,341	0,000
	DT	109,409 <sup>g</sup>	10	10,941	135,939	0,000
	PT	9,722 <sup>h</sup>	10	0,972	28,662	0,000
<i>mT</i>	LR	172,285	4	43,071	93,717	0,000
	MFR	54,852	4	13,713	61,627	0,000
	LT	348,463	4	87,116	16,614	0,000
	NF	1638,353	4	409,588	30,347	0,000
	MFT	5,551	4	1,388	3,423	0,009
	NT	2,220	4	0,555	2,840	0,025
	DT	1,971	4	0,493	6,123	0,000
	PT	0,517	4	0,129	3,813	0,005
Variétés	LR	0,263	1	0,263	0,573	0,450
	MFR	2,976	1	2,976	13,374	0,000
	LT	111,264	1	111,264	21,220	0,000
	NF	144,213	1	144,213	10,685	0,001
	MFT	0,192	1	0,192	0,474	0,492
	NT	3,413	1	3,413	17,468	0,000
	DT	1,401	1	1,401	17,405	0,000
	PT	0,095	1	0,095	2,803	0,095
<i>mT</i> * Variétés	LR	2,192	4	0,548	1,192	0,314
	MFR	2,911	4	0,728	3,270	0,012
	LT	363,571	4	90,893	17,334	0,000
	NF	549,553	4	137,388	10,179	0,000
	MFT	2,213	4	0,553	1,365	0,246
	NT	1,820	4	0,455	2,329	0,056
	DT	0,305	4	0,076	0,947	0,437
	PT	1,211	4	0,303	8,924	0,000
Total	LR	1918,521	300			
	MFR	341,170	300			
	LT	5156,050	300			
	NF	14908,000	300			
	MFT	164,367	300			
	NT	454,000	300			
	DT	132,749	300			
	PT	19,560	300			

LR : Longueur des racines, MFR : Matière fraîche des racines, LT : longueur de la tige, NF : nombre de feuilles, MFT : Matière fraîche des tiges, NT : Nombre de microtubercules, DT : Diamètre des microtubercules, PT : Poids des microtubercules.

**Tableau 3.** Analyse de la variance de l'effet de BAP sur les caractéristiques morphologiques de deux variétés de la pomme de terre (*Désirée* et *Spunta*).

	Source	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Signification
<b>Modèle</b>	LR	1066,695 <sup>a</sup>	8	133,337	235,411	0,000
	MFR	65,275 <sup>b</sup>	8	8,159	881,313	0,000
	LT	2342,022 <sup>c</sup>	8	292,753	109,630	0,000
	NF	4420,000 <sup>d</sup>	8	552,500	145,000	0,000
	MFT	5,788 <sup>e</sup>	8	0,723	32,982	0,000
	NT	363,700 <sup>f</sup>	8	45,463	205,600	0,000
	DT	82,269 <sup>g</sup>	8	10,284	226,542	0,000
	PT	5,900 <sup>h</sup>	8	0,738	58,230	0,000
<b>BAP</b>	LR	67,342	3	22,447	39,632	0,000
	MFR	15,092	3	5,031	543,371	0,000
	LT	33,470	3	11,157	4,178	0,007
	NF	248,767	3	82,922	21,762	0,000
	MFT	0,252	3	0,084	3,833	0,010
	NT	0,413	3	0,138	0,622	0,602
	DT	1,897	3	0,632	13,934	0,000
	PT	1,096	3	0,365	28,837	0,000
<b>Variétés</b>	LR	0,888	1	0,888	1,568	0,212
	MFR	4,496	1	4,496	485,662	0,000
	LT	201,117	1	201,117	75,314	0,000
	NF	322,017	1	322,017	84,511	0,000
	MFT	0,230	1	0,230	10,486	0,001
	NT	0,938	1	0,938	4,240	0,041
	DT	0,400	1	0,400	8,815	0,003
	PT	0,592	1	0,592	46,722	0,000
<b>BAP * Variétés</b>	LR	40,065	3	13,355	23,578	0,000
	MFR	14,098	3	4,699	507,599	0,000
	LT	103,509	3	34,503	12,921	0,000
	NF	353,150	3	117,717	30,894	0,000
	MFT	0,429	3	0,143	6,521	0,000
	NT	4,646	3	1,549	7,003	0,000
	DT	3,583	3	1,194	26,309	0,000
	PT	0,723	3	0,241	19,040	0,000
<b>Total</b>	LR	1198,100	240			
	MFR	67,423	240			
	LT	2961,550	240			
	NF	5304,000	240			
	MFT	10,877	240			
	NT	415,000	240			
	DT	92,800	240			
	PT	8,839	240			

LR : Longueur des racines, MFR : Matière fraîche des racines, LT : longueur de la tige, NF : nombre de feuilles, MFT : Matière fraîche des tiges, NT : Nombre de microtubercules, DT : Diamètre des microtubercules, PT : Poids des microtubercules.

## Annexe 3

**Tableau 1.** Matrice des corrélations entre les différents paramètres de croissance et de la microtubérisation sous l'effet de l'agar-agar.

	<b>Agar-agar</b>	<b>Variétés</b>	<b>LR</b>	<b>LT</b>	<b>NF</b>	<b>MFR</b>	<b>MFT</b>	<b>NT</b>	<b>DT</b>	<b>PT</b>
<b>Agar-agar</b>	1	0,000	-0,331*	-0,057	-0,125*	0,101	0,061	0,502*	-0,164*	-0,162*
<b>Variétés</b>	0,000	1	0,071	0,369*	0,070	-0,023	-0,187*	-0,301*	0,065	0,144*
<b>LR</b>	-0,331*	0,071	1	0,353*	0,326*	0,219*	0,252*	-0,256*	0,294*	0,286*
<b>LT</b>	-0,057	0,369*	0,353*	1	0,421*	0,360*	0,274*	-0,197*	0,307*	0,343*
<b>NF</b>	-0,125*	0,070	0,326*	0,421*	1	0,156*	0,171*	-0,127*	0,121*	0,248*
<b>MFR</b>	0,101	-0,023	0,219*	0,360*	0,156*	1	0,640*	-0,195*	0,398*	0,256*
<b>MFT</b>	0,061	-0,187*	0,252*	0,274*	0,171*	0,640*	1	-0,209*	0,525*	0,333*
<b>NT</b>	0,502*	-0,301*	-0,256*	-0,197*	-0,127*	-0,195*	-0,209*	1	-0,324*	-0,211*
<b>DT</b>	-0,164*	0,065	0,294*	0,307*	0,121*	0,398*	0,525*	-0,324*	1	0,549*
<b>PT</b>	-0,162*	0,144*	0,286*	0,343*	0,248*	0,256*	0,333*	-0,211*	0,549*	1

\* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

**Tableau 2.** Matrice des corrélations entre les différents paramètres de croissance et de la microtubérisation sous l'effet du charbon actif (CA).

	CA	Variétés	LR	LT	NF	MFR	MFT	NT	DT	PT
CA	1	0,000	-0,357*	-0,328*	0,035	-0,021	0,133*	-0,156*	0,097	0,145*
Variétés	0,000	1	-0,328*	-0,368*	-0,351*	-0,067	0,199*	-0,004	0,152*	-0,102
LR	-0,357*	-0,328*	1	0,244*	0,068	0,058	0,010	-0,043	0,036	0,219*
LT	-0,328*	-0,368*	0,244*	1	0,380*	-0,043	-0,259*	0,183*	-0,120*	0,005
NF	0,035	-0,351*	0,068	0,380*	1	-0,004	-0,128*	0,015	-0,123*	-0,002
MFR	-0,021	-0,067	0,058	-0,043	-0,004	1	-0,021	-0,062	0,039	-0,024
MFT	0,133*	0,199*	0,010	-0,259*	-0,128*	-0,021	1	-0,197*	0,137*	0,114
NT	-0,156*	-0,004	-0,043	0,183*	0,015	-0,062	-0,197*	1	-0,005	-0,122*
DT	0,097	0,152*	0,036	-0,120*	-0,123*	0,039	0,137*	-0,005	1	0,333*
PT	0,145*	-0,102	0,219*	0,005	-0,002	-0,024	0,114	-0,122*	0,333*	1

\* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).



**Tableau 3.** Matrice des corrélations entre les différents paramètres de croissance et de la microtubérisation sous l'influence de TDZ.

	<b>TDZ</b>	<b>Variétés</b>	<b>LR</b>	<b>MFR</b>	<b>LT</b>	<b>NF</b>	<b>MFT</b>	<b>NT</b>	<b>DT</b>	<b>PT</b>
<b>TDZ</b>	1	0,000	-0,228*	0,245*	-0,135*	-0,179*	-0,148*	0,098	-0,045	-0,125*
<b>Variétés</b>	0,000	1	0,310	-0,136*	0,066	0,395*	0,063	0,075	0,304*	0,034
<b>LR</b>	-0,228*	0,310*	1	-0,096	0,046	0,367*	0,031	-0,041	0,146*	0,130*
<b>MFR</b>	0,245*	-0,136*	-0,096	1	0,006	-0,096	-0,028	0,260*	-0,041	0,099
<b>LT</b>	-0,135*	0,066	0,046	0,006	1	0,270*	0,016	-0,011	0,007	0,019
<b>NF</b>	-0,179*	0,395*	0,367*	-0,096	0,270*	1	0,075	0,003	0,127*	0,059
<b>MFT</b>	-0,148*	0,063	0,031	-0,028	0,016	0,075	1	-0,023	0,208*	0,496*
<b>NT</b>	0,098	0,075	-0,041	0,260*	-0,011	0,003	-0,023	1	0,134*	-0,058
<b>DT</b>	-0,045	0,304*	0,146*	-0,041	0,007	0,127*	0,208*	0,134*	1	0,215*
<b>PT</b>	-0,125*	0,034	0,130*	0,099	0,019	0,059	0,496*	-0,058	0,215*	1

\* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

**Tableau 4.** Matrice des corrélations entre les différents paramètres de croissance et de la microtubérisation sous l'influence de la *mT*.

	<i>mT</i>	Variétés	LR	MFR	LT	NF	MFT	NT	DT	PT
<i>mT</i>	1	0,000	0,089	-0,061	0,265*	-0,018	-0,128*	0,138*	-0,060	0,044
Variétés	0,000	1	0,029	-0,154*	0,218*	0,152*	-0,039	0,231*	0,228*	-0,090
LR	0,089	0,029	1	0,295	0,154*	0,414*	0,103	-0,056	-0,009	-0,052
MFR	-0,061	-0,154*	0,295*	1	0,135*	0,235*	0,083	0,041	-0,054	-0,021
LT	0,265*	0,218*	0,154*	0,135*	1	0,334*	0,003	0,032	-0,008	-0,027
NF	-0,018	0,152*	0,414*	0,235*	0,334*	1	0,115	-0,060	0,024	-0,054
MFT	-0,128*	-0,039	0,103	0,083	0,003	0,115	1	-0,062	0,090	0,106
NT	0,138*	0,231*	-0,056	0,041	0,032	-0,060	-0,062	1	0,119	-0,034
DT	-0,060	0,228*	-0,009	-0,054	-0,008	0,024	0,090	0,119	1	0,409*
PT	0,044	-0,090	-0,052	-0,021	-0,027	-0,054	0,106	-0,034	0,409*	1

\* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

**Tableau 5.** Matrice des corrélations entre les différents paramètres de croissance et de la microtubérisation sous l'influence de la BAP.

	<b>BAP</b>	<b>Variétés</b>	<b>LR</b>	<b>MFR</b>	<b>LT</b>	<b>NF</b>	<b>MFT</b>	<b>NT</b>	<b>DT</b>	<b>PT</b>
<b>BAP</b>	1	0,000	-0,215*	-0,298*	0,177*	-0,270*	-0,156*	-0,034	0,017	0,148*
<b>Variétés</b>	0,000	1	-0,061	-0,354*	0,458*	0,422*	-0,196*	0,128*	0,156*	-0,333*
<b>LR</b>	-0,215*	-0,061	1	0,473*	-0,102	0,085	-0,030	-0,102	0,294*	0,096
<b>MFR</b>	-0,298*	-0,354*	0,473*	1	-0,232*	-0,239*	-0,001	-0,047	0,341*	0,190*
<b>LT</b>	0,177*	0,458*	-0,102	-0,232*	1	0,253*	-0,168*	0,100	0,007	-0,106
<b>NF</b>	-0,270*	0,422*	0,085	-0,239*	0,253*	1	-0,004	-0,072	0,010	-0,232*
<b>MFT</b>	-0,156*	-0,196*	-0,030	-0,001	-0,168*	-0,004	1	0,101	0,062	0,088
<b>NT</b>	-0,034	0,128	-0,102	-0,047	0,100	-0,072	0,101	1	-0,052	-0,128*
<b>DT</b>	0,017	0,156*	0,294*	0,341*	0,007	0,010	0,062	-0,052	1	0,434*
<b>PT</b>	0,148*	-0,333*	0,096	0,190*	-0,106	-0,232*	0,088	-0,128*	0,434*	1

\* La corrélation est significative au niveau 0.05 (bilatéral).

*Publication* |