

Soutenance de thèse de Doctorat par Madame LOZZI Assia

Samedi 06 juillet 2019

Résumé :

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est une espèce méditerranéenne de grande importance économique et environnementale. En vue de répondre à la demande internationale croissante des produits et sous produits de valeur du caroubier, de vastes projets d'intensification et d'extension des superficies ont concerné diverses régions du Maroc dans le cadre du Plant Maroc Vert. La réussite des ambitieux programmes lancés est certes conditionnée, entre autres, par un approvisionnement immédiat et conséquent en plants de qualité. Les méthodes conventionnelles de propagation du caroubier ne sont pas en mesure de satisfaire les demandes croissantes du marché mondial en matière de ses produits. Les techniques de culture *in vitro* constituent, par contre, une alternative très prometteuse non seulement pour la production en masse et rapide de plants uniformes, mais aussi pour améliorer la biosynthèse *in vitro* de molécules à haute valeur ajoutée, comme les polyphénols, d'intérêt pour les industries notamment pharmacologiques et alimentaires.

Ainsi, le présent projet de recherche a eu pour objectifs d'optimiser la micropropagation du caroubier par microbouturage, organogenèse et par embryogenèse somatique, en vue de contribuer au développement de procédés performants de production de plants et d'application commerciale. Ce travail a eu également pour objectif de développer un procédé de production *in vitro* de métabolites secondaires, notamment les polyphénols, ainsi qu'une méthode d'extraction adaptée aux types d'explants utilisés.

Dans le cas du microbouturage par bourgeonnement axillaire, des efforts ont été consentis pour l'optimisation de la composition minérale de milieu de cultures. De nouveaux milieux ont été formulés compte tenu de la composition minérale des cotylédons de caroubier puis testés *in vitro*. Une amélioration considérable dans le développement des pousses de caroubier a été obtenue dans le nouveau milieu LAC (Lozzi *et al.*, 2019) spécifique au caroubier en comparaison avec le milieu de Murashige et Skoog (MS, 1962). Ainsi des pourcentages d'induction de pousses de 96,7 à 100% ont pu être obtenus. La longueur des pousses et le taux de multiplication enregistrés au cours des deuxième et troisième subcultures étaient, respectivement, >65 mm et >6. L'adoption d'un système de culture liquide et de l'enracinement plutôt en *ex vitro*, développés et appliqués avec succès pour la première fois chez le caroubier a permis de réduire la durée, en plus du coût de la production des plants. Les micros boutures prétraitées avec 3 mM de l'acide indole-3-butyrique (AIB) ont produit un taux d'enracinement *ex vitro* de 91,7%, avec un nombre moyen de 8,3 racines par pousse et une longueur moyenne de 31,5 mm. Les plantules ont été acclimatées avec succès, montrant plus de 90% de survie et une morphologie normale.

Dans le cas de l'embryogenèse somatique, l'induction de cals embryogènes et le développement de structures embryonnaires est fonction du matériel végétal utilisé, de la composition minérale du milieu de culture et du type et de la concentration des régulateurs de croissance et d'hydrates de carbone. Comparativement aux divers types d'explants testés (graines immatures, feuilles, fragments d'hypocotyles, d'épicotyles et de racines), des résultats satisfaisants en matière d'induction de cals embryogènes (100%) ont été obtenus dans le cas des cotylédons embryonnaires matures. C'est la première fois, à notre connaissance, qu'un protocole ait été développé et testé. Il présente l'avantage de disposer d'un matériel végétal facile à manipuler et à stocker, et par conséquent disponible tout au long de l'année. Les résultats obtenus ont aussi révélé que le milieu de culture MS, le plus communément utilisé, est également non optimal dans le cas de l'embryogenèse somatique, et

nécessite également d'être optimisé. L'étude histologique menée a confirmé le caractère embryonnaire des cals obtenus et a révélé la présence de structures à divers stades de développement embryonnaire.

A noter qu'une induction organogène directe et/ou indirecte a aussi été réussie. La réponse a été fonction du type d'explant et des régulateurs de croissance utilisés. Les embryons immatures se sont distingués par un niveau maximum d'induction de pousses adventives (88,2%) et par une moyenne de 8,4 pousses par explant, obtenus dans le milieu additionné de 10 μ M d'AIB et 10 μ M de 6-benzyl-amino-purine(BAP).

L'exploitation des technologies de culture *in vitro* pour la biosynthèse de poly phénols à partir des cals et des vitro plants (feuilles et racines de caroubier) et l'évaluation de leurs activités anti oxydantes, a prouvé, pour la première fois, que la mise en culture des cals est en mesure de produire des poly phénols à forte activité antioxydant. Une étude comparative du potentiel antioxydant entre les produits obtenus *in vitro* et ceux extraits des plantes au champ démontre que la voie novatrice mise au point *in vitro* permet d'améliorer, et de façon considérable, le niveau de production de poly phénols de haute activité antioxydant. Ceci serait d'intérêt pour les industries pharmacologiques et alimentaires utilisatrices de ces composés de valeur. Le protocole développé propose également un procédé d'extraction adapté aux explants multipliés *in vitro*.

Les résultats obtenus, dans la présente étude, sont novateurs et fort prometteurs, d'intérêt pour un développement durable de la filière caroubier.

Mots clé : Antioxydants, *Ceratonia siliqua*, embryogenèse somatique, micro bouturage, organogénèse, poly phénols.