

AVIS DE SOUTENANCE DE THESE

En vue de l'obtention du **DOCTORAT EN SCIENCES**

Le Doyen de la Faculté des Sciences de Tétouan annonce que

Madame NEJJAR EL ANSARI Zineb soutiendra une thèse intitulée

Conservation de trois espèces sylvestres de Thymus (T. broussonetii Boiss., T. pallidus Coss. ex Batt. et T. vulgaris L.) par micropropagation

Discipline : Biologie

Spécialité : Biotechnologie et physiologie végétales

Salle des soutenances, Faculté des Sciences de Tétouan

Le Samedi 27 Octobre 2020 à 10h00

Devant le jury composé de:

Pr. D. SERRAR	Faculté des Sciences de Tétouan	Président/Rapporteur
Pr. S. BARRIJAL	Faculté des Sciences et Techniques de Tanger	Rapporteur
Pr. M. EZZIYYANI	Faculté Polydisciplinaire de Larache	Rapporteur
Pr. M. NHIRI	Faculté des Sciences et Techniques de Tanger	Examineur
Pr. A. LAMARTI	Faculté des Sciences de Tétouan	Directeur de thèse

Résumé

La micropropagation par culture d'apex et par bourgeonnement axillaire à partir d'explants nodaux a été réalisée pour la conservation et la domestication de trois Thymus spontanés, *Thymus broussonetii* Boiss. subsp. *broussonetii* (menacé), *T. pallidus* Coss. ex Batt. subsp. *pallidus* (menacé) et *T. vulgaris* L. subsp. *vulgaris* (très menacé mais cultivé). La composition minérale du milieu de culture et la succession de différents régulateurs de croissance ont influencé la croissance in vitro des trois espèces. Les akènes stérilisés de *T. broussonetii* et *T. pallidus* ont pu germer sur un milieu gélosé renfermant les macroéléments Gautheret avec un taux de 25 % et un degré de contamination inférieur à 4 %. Les apex des plantules de 15 jours (deux feuilles cotylédonaire) ont été cultivés sur le milieu SD + 0,46 μ M Kin et les explants obtenus ont été repiqués tous les mois. Pour *T. vulgaris*, on est parti d'explants multipliés in vitro par repiquage mensuel de segments nodaux (5-6 mm) avec bourgeons axillaires sur le milieu SD + 0,46 μ M Kin. Six macroéléments (MS, B5, SH, SD, MSm et N30K) ont été testés et N30K a été retenu pour les explants de *T. broussonetii* et *T. pallidus* et MS pour ceux de *T. vulgaris*. Sept cytokinines (Kin, BAP, 2iP, DPU, adénine, Zéat et TDZ) à 0,46, 0,93 et 2,32 μ M/l ont été évaluées et l'addition de 0,93 μ M adénine au milieu N30K a significativement favorisé l'induction de bourgeons et l'élongation des explants de *T. broussonetii*, tandis que l'apport de 0,93 μ M DPU au milieu N30K a favorisé la régénération des vitroplants de *T. pallidus*, leur élongation et l'induction de bourgeons. Quant à *T. vulgaris*, l'ajout de 0,46 μ M Kin au milieu MS a favorisé l'élongation des explants et l'induction des pousses. Les combinaisons de cytokinines (Kin, BAP, DPU et adénine à 0,46 μ M) à l'acide gibbérellique AG3 à 0,58 et 1,15 μ M ont permis une amélioration de la multiplication des bourgeons et pousses des vitroplants de *T. broussonetii*, notamment pour N30K + 0,46 μ M DPU + 1,15 μ M AG3, alors que le nombre de bourgeons et pousses, ainsi que la longueur des explants de *T. pallidus* ont augmenté avec N30K + 0,46 μ M adénine + 0,58 μ M AG3. Pour *T. vulgaris*, la combinaison MS + 0,46 μ M BAP + 1,15 μ M AG3 a favorisé la multiplication des bourgeons et pousses, mais engendré une diminution de la longueur des vitroplants. Trois polyamines (putrescine, spermidine et spermine) à 2, 5, 10 et 20 μ M/l ont été testées. Une meilleure multiplication de bourgeons, pousses et racines de *T. broussonetii* a été constatée pour N30K + 10 μ M spermine. Une augmentation du nombre de bourgeons et pousses et une plus grande longueur des vitroplants de *T. pallidus* a été observée pour N30K + 2 μ M spermine. Pour *T. vulgaris*, la longueur des vitroplants, le nombre de bourgeons, pousses et racines ont augmenté pour MS + 10 μ M putrescine. Les combinaisons cytokinines - auxines ont conduit à une meilleure multiplication des racines des explants de *T. broussonetii* et de *T. pallidus*, particulièrement pour N30K + 0,46 μ M Kin + 2,85 μ M AIA. Pour *T. vulgaris*, MS + 0,46 μ M Kin + 0,57 μ M AIA a favorisé la multiplication de bourgeons et de pousses, ainsi que la multiplication et l'élongation des racines. Une augmentation du poids de matière fraîche des explants de *T. broussonetii* a été constatée pour N30K + 10 μ M putrescine, N30K + 0,46 μ M DPU + 5,71 μ M ANA et N30K + 0,46 μ M adénine + 5,71 μ M ANA. Pour *T. pallidus*, les meilleurs poids de matières fraîches des explants ont été notés pour N30K + 10 μ M spermine, 0,46 μ M BAP + 5,71 μ M AIA et 0,46 μ M adénine + 5,71 μ M AIA. Les explants de *T. vulgaris* avec le poids maximal de la matière fraîche poussent sur MS enrichi de 0,46 μ M Kin + 0,57 μ M ANA ; 0,46 μ M DPU + 5,71 μ M ANA et 0,46 μ M adénine + 2,85 μ M ANA. L'acclimatation a été réalisée avec succès à partir de vitroplants développant un bon système racinaire. Un mois après le début d'acclimatation, 97, 93 et 90 % des plantules de *T. broussonetii*, *T. pallidus* et *T. vulgaris* sont saines et rigoureuses. Trois mois après, elles ont été transplantées dans des pots plus grands et un an plus tard, les plantes acclimatées étaient indiscernables des plantes sylvestres. De plus, 100 % des plantes acclimatées de *T. broussonetii* ont développé des fleurs en 2ème année entre juin et août, 96 % pour *T. pallidus* entre juin et

septembre, et 20 % pour *T. vulgaris* entre avril et juin. La ré-initiation de la culture in vitro, a été réalisée pour les trois espèces à partir de segments stérilisés de rameaux de plantes acclimatées avec 1-2 nœuds sur le milieu N30K + 0,46 µM Kin pour *T. broussonetii* et *T. pallidus*, et MS + 0,46 µM Kin pour *T. vulgaris*. 52,1, 56,2 et 60,4 % des explants ont sainement proliféré pour *T. broussonetii*, *T. pallidus* et *T. vulgaris*. Enfin, Nous avons élaboré deux prototypes sur la micropropagation de chaque espèce. Le premier concerne la culture d'apex prélevés des plantules issues de la germination d'akènes et le second intéresse la culture de nœuds enlevés des plantes acclimatées. N° d'ordreannée 2020 UNIVERSITE ABDELMALEK ESSAADI FACULTE DES SCIENCES TETOUAN **Mots clés** : *Thymus broussonetii*, *Thymus pallidus*, *Thymus vulgaris*, Lamiaceae, micropropagation, apex, nœuds, macroéléments, auxines, cytokinines, polyamines, acide gibbéréllique AG3, prototypes, conservation