

**Université de Limoges**

École Doctorale Gay Lussac - Sciences pour l'Environnement (EED 523))

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et UAGPF INRA Val de Loire

**Thèse pour obtenir le grade de**

**Docteur de l'Université de Limoges**

Biosciences de l'environnement et de la santé

**Présentée et soutenue par**

Florian GAUTIER

Le 20 décembre 2017 à 13h30

Salle Albert Duchaigne, Faculté des Sciences & Techniques, 123 avenue Albert Thomas, 87060,  
LIMOGES

**Aptitude du Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) à l'embryogenèse somatique:  
approche de physiologie cellulaire et moléculaire via l'analyse du protéine et  
du transcriptome**

Thèse dirigée par Dr. Marie-Anne Lelu-Walter et Dr. Guy Costa

**JURY :**

Président du jury

M. Vincent Gloaguen, Professeur, Université de Limoges

Rapporteurs

Mme. Françoise Corbineau, Professeur, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6

M. Hervé Etienne, Chercheur - HDR, CIRAD Montpellier

Examineurs

Mme. Caroline Teyssier, Chargée de Recherches, INRA Orléans

M. Jean-François Trontin, Ingénieur de Recherche - Cadre E3, FCBA Bordeaux

M. Philippe Label, Directeur de Recherches, INRA Clermont-Ferrand

Mme. Marie-Anne Lelu-Walter, Directrice de Recherches, INRA Orléans

M. Guy Costa, Maître de Conférences - HDR, Université de Limoges

## Résumé de thèse : Aptitude du Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) à l'embryogenèse somatique : approches de physiologie cellulaire et moléculaire via l'analyse du protéome et du transcriptome

Au cours des prochaines décennies, les besoins en bois vont entraîner une pression considérable sur la production forestière. Pour le Douglas (*Pseudotsuga menziesii*), deuxième essence utilisée pour le reboisement des forêts françaises, le développement et la diffusion de variétés améliorées par sélection classique est lente. Chez les conifères l'embryogenèse somatique, méthode de multiplication végétative la plus performante, a été développée avec succès. Cependant elle n'est obtenue à ce jour qu'à partir de matériel juvénile (graines) malgré les nombreux travaux engagés. Les objectifs de ce travail de thèse ont été de **1**) caractériser à différentes échelles l'aptitude à l'embryogenèse somatique en comparant des masses embryogènes (**ME**) et des cals non-embryogènes (**NE**) isogéniques, **2**) caractériser les marqueurs responsables de la variation du potentiel embryogène en comparant aux niveaux cellulaire et moléculaire, les **ME** primaires à des **ME** secondaires et tertiaires obtenues lors de la réinitiation de l'embryogenèse somatique à partir d'ES cotylédonaire.

**1)** Pour le premier objectif, nous avons rapproché des données de protéomique et de transcriptomique, que nous avons complétées par des observations biologiques (potentiel embryogène), histologiques, et biochimiques (teneur en eau, glucides, régulateurs de croissance). Nous avons observé chez les **ME** une surexpression des marqueurs impliqués dans la différenciation (hormones, facteurs de transcription) et la division cellulaire (événements de mitose, teneur en glucides, information génétique). Nous avons retrouvé certains facteurs de transcription marqueurs de l'embryogenèse somatique : *WOX*, *LEC1*, *SERK1*, *BBM*. En comparaison, les **NE** sont caractérisés par la réponse aux *stimuli* (ABA, phénol, protection contre les ROS), mais aussi par le stockage de réserves carbonées (amidon).

**2)** Le potentiel embryogène des **ME** secondaires et tertiaires augmente significativement. Au niveau cellulaire, cela se traduit par une amélioration de la structuration des ES (diminution de centres polyembryogènes au profit d'ES isolés). Le rapprochement des données de protéomique et de transcriptomique ont mis en évidence que lors de cette reprogrammation cellulaire il y a surexpression du métabolisme des protéines, oxydatif, et hormonal. La présence de facteurs de transcription associés à la maturation de l'ES (*WRKY*, *NAC*, *ARF*, *ERF* et *MYB*) surexprimés précocement pourrait aussi être une caractéristique ciblant un plus fort potentiel embryogène chez le Douglas..

Nos résultats contribuent à une meilleure compréhension de l'aptitude à l'embryogenèse somatique du Douglas. Ils pourraient permettre *in fine* d'initier l'embryogenèse somatique à partir de matériel âgé.

**Mots clefs :** Embryogenèse somatique, histologie, multiplication, potentiel embryogène, protéomique, transcriptomique, Douglas, masse embryogène,, cal non - embryogène.

