



## (12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 28850 B1** (51) Cl. internationale : **A01H 4/00**  
(43) Date de publication : **03.09.2007**

---

(21) N° Dépôt : **29736**

(22) Date de Dépôt : **02.03.2007**

(30) Données de Priorité : **05.08.2004 FR 0408668**

(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/FR2005/002032 05.08.2005**

(71) Demandeur(s) : **NOUAÏM-CHAUSSOD RACHIDA, 2 Chemin du Lavoir 21310 VIEVIGNE (FR)**

(72) Inventeur(s) : **NOUAÏM-CHAUSSOD, Rachida**

(74) Mandataire : **M. MEHDI SALMOUNI-ZERHOUNI**

---

(54) Titre : **PROCEDE DE SELECTION ET DE MULTIPLICATION DE PLANTS D'ARGANIER EN VUE DE SA DOMESTICATION**

(57) Abrégé : LA PRÉSENTE INVENTION CONCERNE UN PROCÉDÉ DE SÉLECTION ET DE MULTIPLICATION DE PLANTS D'ARGANIER (ARGANIA SPINOSA) EN VUE DE SA DOMESTICATION ET NOTAMMENT EN VUE D'UNE PRODUCTION MÉCANISÉE D'HUILE D'ARGAN, REMARQUABLE EN CE QUE LEDIT PROCÉDÉ COMPORTE UNE PREMIÈRE ÉTAPE DE SÉLECTION QUI CONSISTE À PRÉLEVER UN ÉCHANTILLON REPRÉSENTATIF DES NOIX SUR CHAQUE PLANT À IDENTIFIER, PUIS À EFFECTUER DES MESURES BIOMÉTRIQUES SUR CES NOIX, PUIS À RETENIR LES PLANTS POUR LESQUELS LE RÉSULTAT DE L'ADDITION DE L'ÉPAISSEUR MOYENNE DES COQUES DES NOIX DU PLANT ET DE L'ÉCART TYPE ASSOCIÉ EST INFÉRIEUR OU ÉGAL À 1,6 MM. ON POURRA EN OUTRE RETENIR LES PLANTS POUR LESQUELS LE RÉSULTAT DE LA DIFFÉRENCE DU POIDS MOYEN DES NOIX ET DE L'ÉCART TYPE ASSOCIÉ EST SUPÉRIEUR OU ÉGAL À 2 G. LE PROCÉDÉ SELON L'INVENTION COMPTE PLUSIEURS VARIANTES POUR LA MULTIPLICATION DES PLANTS PRÉCÉDEMMENT SÉLECTIONNÉS, PERMETTANT AINSI D'ABOUTIR À LA CRÉATION DE PLANTATIONS D'ARGANIER OLÉAGINEUX.

## ABREGÉ DESCRIPTIF

La présente invention concerne un procédé de sélection et de multiplication de plants d'arganier (*Argania spinosa*) en vue de sa domestication et notamment en vue d'une production mécanisée d'huile d'argan, remarquable en ce que ledit procédé comporte une première étape de sélection qui consiste à prélever un échantillon représentatif des noix sur chaque plant à identifier, puis à effectuer des mesures biométriques sur ces noix, puis à retenir les plants pour lesquels le résultat de l'addition de l'épaisseur moyenne des coques des noix du plant et de l'écart type associé est inférieur ou égal à 1,6 mm.

On pourra en outre retenir les plants pour lesquels le résultat de la différence du poids moyen des noix et de l'écart type associé est supérieur ou égal à 2 g.

Le procédé selon l'invention compte plusieurs variantes pour la multiplication des plants précédemment sélectionnés, permettant ainsi d'aboutir à la création de plantations d'arganiers oléagineux.

- 1 -

PROCEDE DE SELECTION ET DE MULTIPLICATION DE PLANTS  
D'ARGANIER EN VUE DE SA DOMESTICATION

La présente invention concerne un procédé de sélection et de multiplication de plants d'arganier (*Argania spinosa*) en vue de sa domestication et notamment en vue d'une production mécanisée de l'huile d'argan.

5 L'arganier est un arbre endémique du Sud-Ouest marocain, dans lequel les arganeraies jouent un rôle écologique très important : l'arganier possède un puissant système racinaire par lequel il contribue de façon efficace à lutter contre l'érosion et la désertification. De  
10 surcroît, l'arganier présente un intérêt économique certain, en tant qu'arbre fourrager mais surtout oléagineux. En effet, l'huile comestible extraite des amandes provenant du fruit de l'arganier, dénommée « huile d'argan », présente des caractéristiques nutritionnelles  
15 très intéressantes. Ainsi, l'huile d'argan a une teneur en acide oléique de 45 %, en acide linoléique de 35 % et une teneur en tocophérols de 600 mg/kg, dont 60 % de vitamines E. Ces caractéristiques assez exceptionnelles la destinent donc à la fois à un usage alimentaire et  
20 cosmétique.

Toutefois, de grandes difficultés doivent être vaincues en vue d'une domestication de l'arganier, permettant une exploitation économiquement rentable de la production d'huile mais aussi la préservation des systèmes  
25 agro-forestiers à base d'arganier.

En effet, la pérennité de ces systèmes est aujourd'hui menacée du fait d'une exploitation abusive en montagne et d'une politique de culture intensive en plaine. Or l'arganier présente une absence quasi-totale de  
30 régénération naturelle et, à ce jour, les tentatives de reboisement ont été des échecs.

Par ailleurs, concernant une production industrielle d'huile d'argan, on se heurte au problème de la très grande diversité phénotypique des arganiers. Cette diversité se  
35 traduit également au niveau de la noix d'argan, fruit de cet arbre, qui présente une coquille dont l'épaisseur et la

dureté variables d'un arbre à l'autre empêchent la mise au point d'appareils mécaniques de cassage de ces noix. Chacune des noix d'argan contient une à trois amandes oléagineuses. Aujourd'hui, ce cassage est réalisé  
5 manuellement, selon des techniques traditionnelles des populations locales.

On comprend donc mieux l'intérêt de pouvoir déterminer quels plants d'argan sont économiquement intéressants pour l'exploitation de l'huile et de pouvoir  
10 multiplier ces plants. La faisabilité de la multiplication des plants d'arganier est connue par l'article « The argan tree (*Argania spinosa*) in Morocco : Propagation by seeds, cutting and in-vitro techniques », NOUAÏM, R. et al., Agroforestry systems, vol. 54, pages 71-81, 2002.

15 A l'heure actuelle, seules des enquêtes de terrain auprès de la population locale ont permis de distinguer deux types d'arbres, ceux ayant des noix à coques faciles à casser et d'autres ayant des noix à coques difficiles à casser. Toutefois, la connaissance de ces arbres  
20 économiquement intéressants se limite aux zones proches des habitations et se base sur un jugement subjectif.

La présente invention se propose donc de résoudre ces problèmes en proposant un procédé de sélection et de multiplication de plants d'arganier remarquable en ce qu'il  
25 comporte une première étape de sélection qui consiste à prélever un échantillon représentatif des noix sur chaque plant à identifier, puis à effectuer des mesures biométriques sur ces noix, puis à retenir les plants pour lesquels le résultat de l'addition de l'épaisseur moyenne  
30 des coques des noix du plant et de l'écart type associé est inférieur ou égal à 1,6 mm.

Selon une autre caractéristique de l'invention, la première étape de sélection consiste en outre à choisir parmi les arbres précédemment sélectionnés ceux pour  
35 lesquels la différence du poids moyen des noix et de l'écart type associé est supérieure ou égale à 2 grammes.

On comprend bien qu'en retenant des plants porteurs de grosses noix avec une faible épaisseur de coque, on

obtiendra des noix faciles à casser avec une masse d'amande intéressante pour la production d'huile.

D'autres avantages et caractéristiques du présent procédé seront détaillés dans la description qui va suivre.

5 Selon une caractéristique essentielle de l'invention, la sélection primaire des plants d'arganier se fait par des prélèvements sur le terrain et par l'application de critères de mesures avec traitement statistique sur ces prélèvements.

10 La première étape de sélection consiste donc à prélever, lorsque les fruits sont à maturité, sur chaque plant à identifier, un échantillon représentatif des fruits (ou noix) présents sur l'arbre. On retiendra comme taille minimale d'échantillon 30 noix par arbre. Afin d'affiner  
15 les mesures, on pourra bien évidemment augmenter la taille des échantillons, par exemple à 100 noix. On effectue ensuite des pesées et des mesures d'épaisseur de coque des noix. Ces données sont ensuite traitées statistiquement selon une distribution normale. En effet, on a pu établir  
20 que, si les caractéristiques phénotypiques des noix variaient fortement d'un arbre à l'autre, elles étaient relativement homogènes au sein du même arbre.

On sélectionnera les arbres dont la valeur d'épaisseur de coque des noix résultant de l'addition de  
25 l'épaisseur moyenne et de l'écart type associé est inférieure ou égale à 1,6 mm.

Selon une autre caractéristique de l'invention, la première étape de sélection consiste en outre à choisir  
30 parmi les arbres précédemment sélectionnés ceux pour lesquels la différence du poids moyen des noix et de l'écart type associé est supérieure ou égale à 2 grammes. Les arbres ainsi retenus ont des noix avec des coques peu épaisses et un poids important : ces noix sont faciles à casser et permettent une production importante d'huile.

35 Selon une caractéristique supplémentaire de l'invention, la sélection des plants pour la production d'huile peut être améliorée en retenant, en plus du double

critère précédent, les arbres dont le poids moyen des amandes est supérieur à 0,27 g par noix.

On peut également améliorer la sélection en retenant, en sus du critère d'épaisseur de la coque ou du double  
5 critère d'épaisseur de coque et de poids de la noix, indifféremment, les arbres pour lesquels le rapport poids moyen des amandes sur poids moyen de la noix est supérieur ou égal à 0,11.

La pertinence des paramètres précédemment exposés a  
10 été vérifiée par recoupement avec les informations disponibles par le biais des enquêtes de terrain : tous les arbres classés par les populations locales dans la catégorie « arbre dont les noix sont difficiles à casser » se retrouvent bien dans la catégorie correspondante avec  
15 les critères de sélection appliqués ; par contre, certains arbres classés par les populations locales comme ayant des noix faciles à casser se retrouvent, avec les critères retenus, dans l'autre catégorie. On explique ce résultat du fait de la relativité du classement par sondage.

20 Une fois sélectionnés les plants d'arganier susceptibles de donner des noix faciles à casser et ayant une masse d'amande relativement élevée, il s'agit de multiplier ces arbres afin de parvenir à l'objectif de plantations d'arbres à destinée principalement oléagineuse.

25 Pour plus de détails sur les conditions expérimentales de la multiplication de l'arganier, l'Homme de l'art se reportera avantageusement à l'étude préalable de faisabilité, rapportée dans la publication « The argan tree (*Argania spinosa*) in Morocco : Propagation by seeds, cutting and in-vitro techniques », NOUAÏM, R. et al.,  
30 Agroforestry systems, vol. 54, pages 71-81, 2002.

Selon un premier aspect, la multiplication des plants précédemment sélectionnés est effectuée classiquement par semis de noix.

35 Selon une caractéristique de l'invention, il a été établi que les noix germant le mieux sont celles âgées de moins de 12 mois et désinfectées préalablement au semis. Cette désinfection est utile car elle évite les

contaminations microbiennes. On pourra par exemple désinfecter ces noix en les faisant tremper dans du peroxyde d'hydrogène pendant 30 minutes, puis en procédant à un rinçage à l'eau stérile. On procédera ensuite à un  
5 stockage des noix dans l'eau et à l'obscurité pendant quatre jours avant de les semer, l'eau étant renouvelée quotidiennement.

Il a été expérimentalement observé que les noix des arbres non sélectionnés, c'est à dire ceux classés en  
10 « noix difficiles à casser », ont un taux de germination très faible, voire nul, tandis que les noix des arbres sélectionnés présentent un taux de germination variant de 33 à 70 %.

Une fois les noix germées et la plante en  
15 développement, on transférera les jeunes pousses dans un milieu d'enracinement spécifique, commun aux autres techniques de multiplication qui seront tout d'abord présentées.

Selon un second aspect de l'étape de multiplication  
20 des plants d'arganier, la technique utilisée est celle du bouturage. Ce bouturage est réalisé à partir de bois tendre, c'est-à-dire non lignifié, et permet de rajeunir les arbres-mères précédemment sélectionnés, dans l'optique de créer une collection d'arbres permettant de produire en  
25 masse des plants destinés à la production d'huile. Les boutures comporteront de six à huit nœuds.

Selon un dernier aspect, la multiplication des plants sélectionnés est réalisée par micro-bouturage *in vitro*. Dans cette technique, les micro-boutures comportent deux à  
30 trois nœuds et sont mises en culture *in vitro*, dans des tubes. Les micro-boutures sont réalisées à partir de jeunes pousses non lignifiées prélevées sur les arbres-mères sélectionnés ou sur les plants de la collection issus du bouturage.

35 Selon une caractéristique importante de l'invention, les boutures ou micro-boutures sont désinfectées par immersion dans une solution désinfectante avant de procéder à leur transfert respectivement dans un milieu

d'enracinement, pour les boutures, ou dans un milieu de développement, pour les micro-boutures. Cette désinfection préalable du matériel souche permet, comparativement, d'obtenir de bons taux de multiplication. On pourra, par exemple, procéder à cette désinfection par trempage des boutures et micro-boutures dans une solution désinfectante pendant quinze minutes, suivi d'un rinçage à l'eau distillée stérile. On pourra à cette fin employer une solution désinfectante obtenue par dilution au dixième dans de l'eau distillée stérile de Domestos® (10 % d'hypochlorite de sodium et 4 % de surfactants non ioniques et savon ; commercialisée par la société Lever).

Selon une autre caractéristique de l'invention, les micro-boutures sont mises en culture dans un milieu de développement approprié, c'est-à-dire évitant la nécrose des pousses et favorisant au contraire leur croissance. On a ainsi démontré que le milieu de Murashige et Skoog (1962), sous forme solidifiée, est particulièrement adapté aux pousses d'arganier.

L'Homme du Métier pourra également baser le milieu de développement des micro-boutures sur un autre milieu solidifié, le milieu de Quoirin et Lepoivre (1977).

Le milieu de développement contiendra bien entendu une hormone de croissance végétale, favorisant préférentiellement la formation et le développement du système racinaire. Cette hormone sera donc une auxine, par exemple l'acide indole-3-butyrique (AIB).

On donnera ci-après un exemple non limitatif de formulation de milieu de développement approprié : pour 1 litre de milieu de Murashige et Skoog (MS), on ajoutera de l'Agar à 6 g/L et 0.7 g/L d'acide indole-3-butyrique (AIB).

En outre, le milieu de développement des micro-boutures pourra contenir de la vitamine E, par exemple à une teneur de 1 mg/L. La présence de vitamine E dans le milieu de culture améliore l'aspect des plantules, ainsi que le degré de multiplication par deux. On pourra procéder à plusieurs cycles de croissance d'une période de 3



semaines, à l'issue de laquelle on recoupe les boutures en segments de deux ou trois nœuds et on les transfère dans un milieu de développement frais. On augmente ainsi par clonage le nombre de plants sélectionnés. On effectuera le  
5 transfert des micro-boutures en milieu d'enracinement lorsqu'elles auront atteint 3 à 4 centimètres de long.

Selon une caractéristique supplémentaire de l'invention, on peut procéder à une seconde étape de sélection des plants, et plus précisément des lignées  
10 clonales, grâce au micro-bouturage *in vitro*. Cette seconde sélection, optionnelle mais fort avantageuse, a pour but de déterminer les arbres-mères les plus aptes à résister à la sécheresse.

Cette aptitude étant déterminée dans le cas de  
15 l'arganier par la vigueur du système racinaire, la sélection s'effectue en retenant les arbres-mères dont les clones présentent les appareils racinaires les plus développés à l'issue du premier cycle de croissance *in vitro*. Cette seconde sélection pourra, par exemple,  
20 s'effectuer en retenant les clones dont le rapport poids sec des parties racinaires sur celui des parties aériennes est le plus élevé. Il a en effet été établi que ces caractéristiques sont conservées tout au long de la croissance des pousses puis des plants. Le micro-bouturage  
25 *in vitro* permet donc d'opérer une sélection précoce des plants qui résisteront le mieux à la sécheresse et auront donc les meilleures aptitudes à se maintenir et à fructifier dans le milieu naturel.

Une fois le développement des pousses bien amorcé, il  
30 est impératif d'obtenir une croissance optimale du réseau racinaire des pousses, qu'elles soient issues de germinations ou des opérations de boutures ou de micro-boutures. Par conséquent, les pousses vont être transférées dans un milieu d'enracinement qui doit impérativement être  
35 bien aéré, sous peine de perte des pousses.

Un tel milieu pourra par exemple être basé sur de l'argile calcinée, avec des additifs minéraux, hormonaux et autres classiquement employés dans le domaine de

l'arboriculture. On pourra avantageusement utiliser du Terragreen, ce substrat ayant à la fois une bonne capacité de rétention d'eau et une bonne aération. De préférence, pour les mêmes raisons qu'exposées précédemment, on  
5 stérilisera le substrat du milieu d'enracinement. Cette stérilisation pourra par exemple être effectuée par chauffage à 120°C et pendant 20 minutes du substrat hydraté à la limite de saturation.

On donnera à titre d'exemple non limitatif de milieu  
10 nutritif contenant des hormones et des vitamines, la composition suivante : pour 1 litre de milieu, on mélangera 100 mL de solution de vitamines de Walkey (0,08 g de Thiamine, 0,1 g d'acide nicotinique, 0,1 g de pyridoxine, qsp eau distillée) ; 500mL d'acide  
15 gibbéréllique, 70 mL d'AIB (à 0,7g/L) ; 10 mL de vitamine E (à 1 mg/L) ; 1 g d'inositol ; qsp eau distillée.

Enfin, après l'étape d'enracinement, le procédé selon l'invention comporte une étape d'acclimatation des jeunes pousses, étape pendant laquelle l'humidité relative des  
20 serres dans lesquelles les pousses ont été mises en culture est progressivement réduite de la saturation à 80 %, sur une période de 3 à 6 semaines. Cette réduction de l'humidité relative permet d'éviter la mortalité des plants. Il a été observé l'importance de maintenir ce taux  
25 d'humidité supérieur ou égal à 80 %.

On comprend bien que la présente invention permet ainsi de constituer des arborithèques, c'est-à-dire des collections ou conservatoires d'arbres sélectionnés, lesquels seront ensuite multipliés en masse, notamment par  
30 le biais de la technique du micro-bouturage qui permet d'obtenir un nombre élevé de plants en peu de temps.

Il va de soi que le présent procédé de sélection de plants d'arganier peut également être immédiatement mis en application en forêt, pour déterminer sur quels arbres la  
35 récolte de noix doit se faire, afin d'avoir uniquement des noix faciles à casser et donc cassables par le biais d'un outil mécanique approprié.

## REVENDEICATIONS

1 - Procédé de sélection et de multiplication de plants d'arganier (*Argania spinosa*) en vue de sa domestication et notamment en vue d'une production mécanisée d'huile d'argan, **caractérisé** en ce qu'il comporte  
5 une première étape de sélection qui consiste à prélever un échantillon représentatif des noix sur chaque plant à identifier, puis à effectuer des mesures biométriques sur ces noix, puis à retenir les plants pour lesquels le résultat de l'addition de l'épaisseur moyenne des coques  
10 des noix du plant et de l'écart type associé est inférieur ou égal à 1,6 mm.

2 - Procédé selon la revendication précédente, **caractérisé** en ce que la première étape de sélection consiste en outre à retenir les plants pour lesquels le  
15 résultat de la différence du poids moyen des noix et de l'écart type associé est supérieur ou égal à 2 g.

3 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2 **caractérisé** en ce que la sélection des plants pour la production d'huile peut être affinée en  
20 choisissant parmi les arbres précédemment sélectionnés ceux dont le rapport poids moyen des amandes sur poids moyen de la noix est supérieur à 0,11.

4 - Procédé selon les revendications 1 ou 2 **caractérisé** en ce que la sélection des plants pour la  
25 production d'huile peut être affinée en choisissant parmi les arbres précédemment sélectionnés ceux dont les noix présentent un poids moyen en amande supérieur à 0,27 g.

5 - Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes **caractérisé** en ce que la multiplication des  
30 plants précédemment sélectionnés est effectuée par semis de leurs noix âgées de moins de 12 mois et désinfectées.

6 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 **caractérisé** en ce que la multiplication des plants sélectionnés est réalisée par  
35 bouturage à partir de bois tendre, c'est-à-dire non lignifié, prélevée sur les arbres sélectionnés.

7 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 **caractérisé** en ce que la multiplication des plants sélectionnés est réalisée par micro-bouturage *in vitro* sur un milieu de développement.

5 8 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 6 ou 7 **caractérisé** en ce que les boutures ou micro-boutures sont désinfectées par immersion dans une solution désinfectante avant de procéder à leur transfert respectivement dans un milieu d'enracinement ou de  
10 développement.

9 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 ou 8 **caractérisé** en ce que le milieu de développement des micro-boutures est à base d'un milieu pris dans le groupe suivant : milieu de Murashige et  
15 Skoog (1962), milieu de Quoirin et Lepoivre (1977).

10 - Procédé selon la revendication précédente **caractérisé** en ce que le milieu de développement contient en outre de la vitamine E.

11 - Procédé selon les revendications 8 à 10  
20 **caractérisé** en ce que les boutures ou micro-boutures après développement en plantules sont transférées dans un milieu d'enracinement qui est aéré.

12 - Procédé selon la revendication précédente **caractérisé** en ce que ledit milieu est à base d'argile  
25 calcinée, par exemple du Terragreen.

13 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 à 12 **caractérisé** en ce qu'après l'étape d'enracinement, ledit procédé comporte une étape d'acclimatation pendant laquelle l'humidité relative est  
30 progressivement réduite de la saturation à 80 %, durant une période de 3 à 6 semaines.

14 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 7 à 10 **caractérisé** en ce qu'il comporte une seconde étape de sélection consistant à retenir les arbres-  
35 mères dont les clones issus du microbouturage présentent les appareils racinaires les plus développés à l'issue du cycle de croissance en milieu de développement, afin de

sélectionner des plants qui auront une meilleure résistance à la sécheresse.