

La culture d'*Isatis tinctoria* fut très importante au Moyen-Âge pour sa production de pigment indigo, très prisé par les teinturiers en Europe. L'intérêt pour les molécules d'origine naturelle et le caractère emblématique du pastel en Occitanie a permis de faire perdurer sa culture, notamment dans la région Occitanie. Toutefois, le rendement de cette production demeure instable et la qualité du pigment mal maîtrisée. C'est dans ce contexte qu'un projet de recherche visant à améliorer la quantité et la qualité du pigment bleu contenant l'indigo à partir des feuilles de Pastel a été mise en place.

Au cours de ce projet, nous nous sommes intéressés aux principaux précurseurs de l'indigo dans le Pastel, l'isatan A et l'isatan B. Ces composés très instables ont été identifiés par UHPLC-HRMS afin d'établir un suivi régulier de leur teneur dans la plante au cours de l'année. Ces analyses ont montré la présence de précurseurs dans les feuilles tout au long de l'année et leur relative stabilité dans les feuilles jusqu'à trois jours après leur récolte. Leur réactivité dans les conditions de production a également été étudiée avec pour l'objectif de mieux comprendre leur conversion en indigo.

En parallèle, plus d'une quarantaine de pigments ont été produits à partir de feuilles de Pastel. Les paramètres de production du pigment ont été optimisés afin d'améliorer le rendement en pigment et sa teneur en indigo, ce qui a conduit à un essai de production à l'échelle industrielle. En parallèle, une méthode de dosage de l'indigo a été développée et appliquée à l'ensemble des pigments produits, afin d'évaluer plus précisément leur teneur en indigo.

Enfin, nous avons mis en place une étude de la diversité fongique endophyte cultivable des feuilles de Pastel dans le but d'évaluer leur éventuelle implication dans la biogenèse et/ou l'activation des précurseurs pour la production de pigment. Au terme de cette étude, plus d'une centaine de souches, répartie dans une vingtaine de genres, ont pu être isolés et cultivées.

Ces travaux ont permis une meilleure compréhension de la réactivité des précurseurs, ainsi qu'une optimisation de leurs conditions d'extraction pour la production de l'indigo. S'il est possible de produire du pigment toute l'année à partir de feuilles fraîches, en revanche, la production demeure inconstante et peu reproductible, et ne semble donc pas uniquement conditionnée à la teneur en précurseurs et aux conditions d'extraction. Des mécanismes enzymatiques impliquant des enzymes foliaires végétales ou microbiennes, difficiles à maîtriser, sont très probablement impliqués dans le processus de conversion des précurseurs en indigo.

*Isatis tinctoria* culture was very important in the Middle Ages for its production of indigo pigment. However, the yield of this production remains unstable and the quality of the pigment poorly controlled, since it requires fresh leaves. In light of these issues, this study focuses on the improvement of the indigo pigment production from woad. The first part of this manuscript will focus on the identification, monitoring and study of the reactivity of indigo precursors within the fresh leaves. In the second part, pigment production was optimized through experimental designs, leading to a large-scale trial. Finally, the fungal endophytic strains in woad leaves were studied to determine their potential role in indigo biotransformation.