

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effet des extraits d'algues sur la stimulation
de la croissance des petits pois et de l'orge**

Présenté par :

OUCHENE Mouna & BOUKOUCHA Radhia

Soutenu le : **25 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme. IDRES N.

M. NABTI E.

Melle. BENSIDHOUM L.

Melle. DJINNI. I.

MAA

Professeur

Docteur

MCB

Présidente

Encadreur

Co-promotrice

Examinatrice

Année Universitaire : 2017 / 2018

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La mémoire de ma petite sœur Sawssen

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices,
leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs
prières tout au long de mes études.*

*Mes frères qui n'ont cessé d'être pour moi des
exemples de persévérance, de courage et de
générosité*

Youcef, Halim, Bilal

*A mes belles sœurs Zaho-Katia pour leur appui et
leur encouragement*

*Je ne peux pas oublier de remercier
chaleureusement mes très chers amis CHERI ,
DANOUCHE, OUISSAM, CHAHOU , ZAHO et AFOU
pour l'ambiance cordiale*

*A Ma famille ainsi que toutes personnes qui
portent un grain d'amour à mon égard.*

*A ma chère binôme MOUNA et tout sa famille
Et toute la promo EM 2018*

Dida

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes très chers Parents,
vous qui avez toujours cru en moi et su me redonner confiance
Lorsque la motivation n'était plus au rendez-vous.
Acceptez ce travail comme le témoignage de mon profond
amour et mon attachement indéfectible*

Mon cher frère :chawki

Mes belles sœurs : houda, malak, assil et achwak

*mes amies : Hanane, Ahlame, Lamia, Hafidha ,
Faziya, Wassila, chafiaa*

A ma copine de chambre : wafa

*A mon chère ami yacine qui m'a soutenu dans toutes les
durs périodes*

A ma binôme radhia et toute sa famille

*Et toute la promo EM 2018, à tous ceux qui
m'ont aidé de près ou de loin à accomplir ce travail.*

Et à tout ceux qui j'aime et m'aiment encore.

Mouna

Remerciements

En premier lieu, nous remercions Dieu le tout puissant de nos avoir accordé le courage et la force de mener à bien ce modeste travail.

Au terme de cette étude, nos reconnaissances respectueuses vont d'abord à Monsieur NABTI El-H., Merci pour votre patience, vos encouragements et votre confiance. Votre rigueur scientifique, votre pédagogie et vos conseils rédactionnels nous ont aidés à mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercions très sincèrement Mme. IDRES N. d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance, ainsi que Mlle DJINI I. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions Mlle. BENSIDHOUM Leila, notre Co-promotrice, pour son suivi attentif, son soutien, son enthousiasme et ses conseils avisés tout au long de ce travail.

Nous remercions l'équipe du laboratoire de Maîtrise des Energies Renouvelables, particulièrement M. Abassi Houssine, Mme. Tabli Nassira, Mme. Khelloufi Nouria, Mlle. Ait Bessai Sylia et Mlle. Belkebla Nadia, merci pour votre disponibilité.

Il est agréable d'exprimer nos profondes gratitude et nous plus vifs remerciements envers tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Liste des figures

Figure 01 : Site de prélèvement de l'échantillon d'algue marine 13

Figure 02 :Schéma illustrant les différentes expériences réalisées 14

Figure 03 : Quelques étapes d'évaluation des paramètres de la croissance des petits pois 15

Figure 04 : Les espèces fongiques..... 17

Figure 05 : Mise en évidence de l'effet antifongique des extraits d'algue 18

Figure 06 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Endo et al., 2006)..... 20

Figure 07 : Schéma illustrant les différentes étapes du test de germination sous stress salin. 23

Figure 08 : Schéma illustrant les différentes étapes du test de croissance sous stress..... 24

Figure 09: Valeurs des paramètres de croissance des petits pois cultivé en présence ou en absence d'extrait d'algue *Cystoseira* sp. 28

Figure 10 : Quantités de chlorophylle a, b et totale des petits pois cultivé en présence des 33 différentes concentrations d'extrait de *Cystoseira* sp. 31

Figure 11 : Valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des espèces fongiques par les extraits d'algue..... 33

Figure 12 : Teneur en composés phénoliques des extraits d'algue 35

Figure 13: Les pourcentages de réduction du radical DPPH par les trois extraits d'algue 38

Figure 14 : La capacité réductrice des trois extraits d'algue *Cystoseira* sp. 39

Figure 15 : Pourcentage de germination des graines d'orge sous stress salin..... 41

Figure 16 : Effet de stress saline sur la croissance de l'orge (paramètre tige)..... 42

Figure 17 : Quantités de chlorophylle a, b et totale de l'orge cultivé en présence des différentes concentrations d'extrait de *Cystoseira* sp.et le stress saline 44

Figure 18 : Effet de l'extrait de *Cystoseira* sp. sur la teneur en H₂O₂ des plantules d'orge en présence et en absence de stress salin 46

Figure 19 : Effet de l'extrait de *Cystoseira* sp. sur l'intégrité membranaire des plantules d'orge en présence et en absence du stress salin 47

Figure 20 : Effet de l'extrait de *Cystoseira* sp. sur la peroxydation lipidique des membranes cellulaires de l'orge 48

List des abréviations

ANOVA : Analyse of Variance (Analyse de la variance)

CAT : Catalase

DMSO : Diméthyl Sulfoxyde

DMSP : 3-dimethylsulfoniopropionate

DPPH: Diphényl picryl-hydrazyl

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

LSD: Least Significant Difference

MDA: malondialdéhyde

PDA: Potato Dextrose Agar

POX: Peroxydase

ROS: Reactive Oxygen Species

SOD: Superoxide Dismutase

TBA : Acide Thiobarbiturique

TCA : Acide trichloracétique

Sommaire

Liste des figures

Liste des Abréviations

Introduction 1

Synthèse Bibliographique

Les algues : Une source prometteuse d'alternatives

1. Les algues	3
1.1. Caractéristiques générales des algues	3
1.2. Composition chimique des algues	3
1.3. Les domaines d'application des algues	4
1.3.1. Industrie alimentaire.....	4
1.3.2. Pharmaceutique et cosmétique	4
1.3.3. Biomédical	5
1.3.4. Biorestauration des écosystèmes	5
1.4. Effets des algues sur les plantes	5
1.4.1. Effet direct des algues sur la croissance des plantes	6
1.4.2. Effet indirect des algues sur la croissance des plantes	6
1.5. Effet des algues sur la croissance des plantes stressées	6
1.5.1. Plante sous stress abiotique	6
1.5.2. Plante sous stress biotique.....	7
2. La salinité : Une menace sérieuse pour l'agriculture	7
2.1. Effet de la salinité sur les plantes	8
2.1.1. Effet de la salinité sur la germination.....	8
2.1.2. Effet de la salinité sur l'absorption d'eau et de nutriments.....	8
2.1.3. Génération des espèces oxygénées réactives (EOR).....	9
2.1.4. Inhibition de la photosynthèse.....	9

2.2. Effet de la salinité sur la structure du sol	9
3. Les algues : Une alternative prometteuse au problème de salinité.....	10
3.1. Les algues et les solutés compatibles	10
3.2. Les solutés compatibles.....	10
3.3. Les différents types de solutés compatibles	11
3.4. Le rôle des solutés compatibles.....	11
4. Mode d'applications des algues.....	12

Matériels et Méthodes

Partie I : Effet de l'extrait de l'algue Cystoseira sp. sur la croissance des petits pois

1. Collecte des algues	13
2. Préparation de la poudre d'algue	13
3. Préparation de l'extrait d'algue.....	14
4. Effet de l'extrait d'algues sur la croissance des petits pois	14
4.1. Désinfection de la surface des graines	14
4.2. Protocole expérimental.....	14
5.3. Evaluation des paramètres de croissance végétale	15
5.4. Dosage de la teneur en chlorophylle	15
4. Analyse statistique.....	16

Partie II : Activité antifongique et anti-oxydante des extraits d'algue

1. Les espèces fongiques	17
2. Préparation des extraits d'algue	17
2.1 Préparation de l'extrait aqueux autoclavé.....	17
2.2. Préparation de l'extrait Ethanolique	17
2.3. Préparation de l'extrait aqueux à froid.....	17

3. Test d'activité antifongique des extraits de <i>Cystoseira</i> sp	18
4. Test d'activité anti-oxydante des extraits de <i>Cystoseira</i> sp	18
4.1. Dosage des polyphénols	18
4.2. Dosage des Flavonoïdes	19
4.3. Mesure de l'activité anti-oxydante	19
4.3.1. Effet scavenger du radical DPPH.....	19
4.3.2. Pouvoir réducteur	20

Partie III : Effet des extraits d'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin

1. Détermination de l'halotolérance des graines de l'orge.....	22
1.1. Désinfection de la surface des graines	22
1.2. Protocole expérimental	22
2. Effet des extraits de <i>Cystoseira</i> sp. sur la germination des graines sous stress salin	23
3. Effet des extraits de <i>Cystoseira</i> sp. sur la croissance de l'orge sous stress salin	23
3.1. L'intégrité membranaire.....	24
3.2. Peroxydation des lipides.....	25
3.3. Dosage de la production de H ₂ O ₂	25
4. Analyse statistique	26

Résultats et Discussion

Partie I : Effet de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la croissance des petits pois

1. Effet de l'extrait <i>Cystoseira</i> sp. sur les paramètres de croissance des petits pois	27
2. Effet de l'extrait <i>Cystoseira</i> sp. sur la teneur de l'orge en chlorophylle	30

Partie II : Activité antifongique et anti-oxydante des extraits d'algue

1. Activité antifongique des extraits d'algue	33
2. Teneur en composés phénoliques	35
3. Activité anti-oxydante	37

3.1. Effet de piégeage du radical DPPH.....	37
3.2. Test de potentiel réducteur	38

Partie III : Effet des extraits d'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin

1. Effet de stress salin sur la germination des graines d'orge	40
2. Effet de stress saline sur la croissance d'orge.....	41
3. Effet de l'extrait <i>Cystoseira</i> sp. et le stress salin sur la teneur de l'orge en chlorophylle	43
4. Evaluation des paramètres du stress en présence et absence de l'extrait de <i>Cystoseira</i> sp.....	44

Conclusion.....	49
------------------------	-----------

Références Bibliographiques	52
--	-----------

Annexe

Introduction

L'explosion démographique et la salinisation des sols ne constituent pas les seules contraintes affectant la production agricole. En l'occurrence, plusieurs activités humaines, principalement liées à l'industrialisation et l'utilisation excessive des hydrocarbures, mais aussi à d'autres pratiques agricoles comme l'application intensive des fertilisants, pesticides et herbicides chimiques ont rendu, ensemble, l'agriculture intensive.

Dans un contexte d'agriculture intensive, les engrais chimiques comprenant les engrais azotés, potassiques et phosphatés sont nécessaires pour fournir aux plants des nutriments en quantité suffisante et optimiser le rendement des récoltes. Cependant l'utilisation massive d'engrais chimique détruit les microorganismes et les insectes non pathogènes qui protègent la plante, rendant ainsi les récoltes plus susceptibles aux maladies (Mahdi et al. 2010).

Le développement de l'agriculture biologique constitue une alternative prometteuse à l'agriculture intensive. Mais Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), il semble impossible de se passer des engrais chimiques pour nourrir 6 milliards d'humains sur terre (et 9 milliards à l'horizon 2050). Dans une perspective du développement durable, il s'agit de trouver le juste équilibre d'une agriculture raisonnée : utilisation restrictive d'engrais chimiques, en appliquant notamment le bon dosage, et développement de l'agriculture biologique, autant que possible (Vedura, 2018).

Les algues marines et leurs produits présentent un grand intérêt scientifique et agronomique, car elles jouent un rôle important dans l'amélioration de la qualité du sol et le développement des plantes. Plusieurs études ont révélé les avantages d'extraits d'algues sur les plantes tel-que l'amélioration de la performance des cultures et le rendement et l'amélioration de la résistance au stress biotique et abiotique (Eyras et al. 2008 ; Norrie et Keathley, 2006).

Les extraits d'algues pourraient également améliorer la disponibilité des nutriments, la productivité (Aziz et al. 2011) et la tolérance au stress chez de nombreuses espèces de plantes par augmentation de la concentration des molécules bioactives, notamment des antioxydants (Fan et al. 2011; Rayirath et al. 2009). Selon Khan et al. (2009), 15 millions de tonnes d'algues sont produits annuellement et une importante partie est utilisée comme supplément nutritif ou comme régulateurs de croissance des végétaux, engrais ou pesticides. C'est dans cette optique que le présent travail est dirigé dont l'objectif principal est de proposer un bioprocédé visant à améliorer la croissance des plantes.

Ce travail est scindé en trois parties :

- La première, présente une synthèse bibliographique sur les algues marines et le problème de salinité ;
- La seconde est réservée au matériel et méthodes utilisés dans cette investigation ;
- La dernière est consacrée aux résultats et discussion obtenus lors de ce travail.

1. Les algues :

1.1. Caractéristiques générales des algues

Les algues sont considérées comme les ancêtres de la vie terrestre et sont divisées en deux grandes catégories : les micro-algues (unicellulaires) et les macro-algues (pluricellulaires) (Campbell et Reece, 2007). Leur structure biologique est plus simple que les végétaux terrestres, elles ne possèdent ni racines, ni tiges, ni feuilles véritables. Elles sont composées de crampon qui ressemble à des racines leur permettant de se fixer à une surface immobile, un stipe en guise de tige et de frondes servant comme surface de la photosynthèse (Garon-Lardiere, 2004 ; Campbell et Reece, 2007 ; Mac Artain et al. 2007).

Tout comme les végétaux supérieurs, et contrairement aux champignons, les algues ont un système photosynthétique basé sur la chlorophylle a. Sur la base de leurs pigments et d'autres caractéristiques morphologiques et physiologiques, l'ensemble des algues a été classé en : Phéophycées (algues brunes) ; Chlorophycées (algues vertes) et Rhodophycées (algues rouges) (Garon-Lardiere, 2004 ; MacArtain et al. 2007).

1.2. Composition chimique des algues

La composition des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance et le stress (Julie, 2010). Les algues se composent généralement de protéines, d'une faible quantité de lipides comparée au fort pourcentage des glucides, qui sont essentiellement sous forme de polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes et les ulvanes (Julie, 2010). Les algues peuvent contenir aussi des métabolites secondaires comme les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (polyphénols et bromophénols) (Chouikhi ,2013). Plusieurs phytohormones présentes en faibles quantités (principalement les cytokinines, l'acide abscissique et les auxines) ont été identifiées dans des produits obtenus d'algues marines (Iouvieaux, 2004), ces molécules ont une double fonction, d'une part, elles régulent les procédés de croissance et de développement, comme la division cellulaire, et d'autre part, elles jouent un rôle dans le signalement des changements de l'environnement extérieur (Stirk et van Staden, 2014).

Les algues puisent dans la mer une richesse incomparable d'éléments minéraux d'où la fraction minérale peut représenter jusqu'à 36% de la masse sèche. Parmi ces éléments : le potassium, le chlore, le sodium, le calcium, le magnésium, le soufre, le phosphore, l'iode, le fer, le cuivre, le manganèse et de nombreux autres oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le

zinc, le cuivre, le sélénium et le molybdène, le fluor, le brome, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt (Viguerie et al. 2002).

1.3 Les domaines d'application des algues

Il existe plusieurs domaines qui font appel à des algues ou aux phycocolloïdes. Actuellement elles présentent une source nutritionnelle et un produit à grande valeur, surtout en Asie où elles sont utilisées directement comme aliments, ou indirectement surtout par l'industrie de phycocolloïdes (agars et alginates). Elles sont utilisées dans l'agriculture comme engrais et fourrage, dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique, dans le textile, et dans bien d'autres domaines (Chopin, 1997).

1.2.1.1. Industrie alimentaire

En consommation humaine, les macroalgues sont déjà bien ancrées dans les habitudes alimentaires des populations côtières et ce même depuis la préhistoire (Dillehay et al. 2008). Actuellement, surtout en Asie, les macroalgues sont incluses dans la culture gastronomique (Mouritsen, 2012), elles peuvent être consommées crues ou incorporées dans les soupes. Ces algues sont une source précieuse de nutriments comme l'agar qui est utilisé pour faire des desserts de gelée végétarienne et pour améliorer la texture des produits laitiers comme le fromage, les flans et les yaourts (Mc Hugh, 2003). La carraghénane, par sa capacité stabilisante, peut être incorporée dans certains produits alimentaires pour mettre en suspension les ingrédients solides, comme les pulpes et la poudre de cacao (Hernandez-Carmona, 2013).

1.2.1.2. Pharmaceutique et cosmétique

Les algues sont riches en vitamines, en oligo-éléments et en iode, qui jouent un rôle dans les soins de la peau. Plusieurs entreprises produisent des produits pour soins corporels à base d'algues, notamment des bains d'algues, des shampoings, des gels douche, des crèmes hydratantes, des masques faciaux, etc. les alginates et les fucanes extraits des macroalgues sont connus pour leurs effets contre le vieillissement. Ils sont ainsi retrouvés dans la composition de nombreux produits de soin pour la peau (Kang et al. 2013 ; Thomas et Kim 2013). Les alginates sont également utilisés dans la fabrication de pommade et de pansement pour leur capacité à accélérer le processus de cicatrisation (Pereira et al. 2013 ; Wang et al. 2015). En outre, les agars servent d'excipient dans les dentifrices, ou encore de gélifiant dans les crèmes (Garon-lardière, 2004).

1.2.1.3. Biomédical

Les algues constituent une source importante de fibres (33 à 61%) qui facilitent le transit intestinal. Leurs alginates, modifient l'absorption intestinale du glucose et la réponse insulinique en retardant l'absorption du glucose (Vaugelade et al. 2000). D'autres effets bénéfiques des macroalgues, incluent les activités anti-cancers, anti-tumorales, antidiabétiques, antiallergiques et antivirales (El Gamal, 2010 ; Tierney et al. 2010; Harnedy et Fitzgerald, 2011 ; Hamed et al. 2015). Plusieurs études ont également démontré l'activité antibactérienne et antifongique des algues (Peres et al. 2012 ; Beaulieu et al. 2015 ; Singh et al. 2015).

1.2.1.4. Biorestauration des écosystèmes

Des travaux menés par plusieurs chercheurs indiquent que l'utilisation des populations de macroalgues à grande échelle pourrait fournir éventuellement des technologies nouvelles et rentables pour la réduction de la diffusion des contaminants d'origine hydrique (Chouikhi, 2013) comme les métaux lourds, les bactéries pathogènes, les virus, etc. Dans les régions côtières polluées par les rejets agricoles, urbains ou salmonicoles, les grandes algues peuvent jouer un rôle de bio-filtre en absorbant l'azote et le phosphore dissous transportés par les courants (Chung et al. 2002, 2013). Les effets des macroalgues comme fertilisants diffèrent selon l'algue utilisée. En général, ce n'est pas dû seulement aux composants chimiques et la valeur nutritionnelle de l'algue, mais aussi aux propriétés physiques de leurs polysaccharides, lesquels aident à améliorer la structure du sol (Kim, 1970). Par leur composition riche en soluté compatibles, les algues constituent un moyen potentiel pour la restauration de la croissance des cultures sous stress abiotique (Nabti et al. 2007 ; Arif et al. 2016).

1.3. Effets des algues sur les plantes

Les algues constituent un moyen de lutte efficace contre les stress que peuvent subir les plantes. Ce sont des biostimulants de la croissance, utilisés comme biofertilisants des sols (Hurtado et al. 2009). Plusieurs études ont révélé l'effet des extraits d'algues sur l'amélioration de la croissance, la performance et le rendement des cultures (Norrie et Keathley, 2006 ; Eyraas et al. 2008;). Les extraits d'algues ont également la capacité d'améliorer la tolérance au stress chez de nombreuses espèces de plantes par augmentation de la concentration des molécules bioactives, notamment des antioxydants dans les plantes traitées (Rayirath et al.

2009 ; Fan et al. 2011). Les algues et leurs produits peuvent agir directement ou indirectement sur la plante.

1.3.1. Effet direct des algues sur la croissance des plantes

Les effets de l'application d'algues sur la croissance des végétaux sont connus empiriquement depuis les débuts de leur application sur les champs. Plusieurs études ont montré que les extraits d'algues améliorent la germination, la croissance racinaire, le poids des fruits et la teneur de la plante en chlorophylle (Sivasankar et al. 2006 ; Roussos et al. 2009). Cette stimulation de la croissance des plantes se traduit par une plus grande vigueur conduisant à une augmentation du rendement des cultures ainsi que la qualité et la taille des fruits produits (Jannin 2012). Les extraits d'algue revendiquent des actions sur la stimulation de la croissance des plantes, mais aussi sur leur capacité à améliorer la tolérance des plantes à la salinité, la chaleur et la sécheresse (Van Oosten, 2017).

1.3.2. Effet indirect des algues sur la croissance des plantes

Les extraits d'algues agissent sur les caractéristiques physiques et biologiques des sols grâce à leur richesse en polyuronides, tels que les alginates et les fucoïdanes, qui maintiennent dans les sols une humidité et une aération nécessaires à la mise en place du système racinaire et favorisant la croissance de bactéries bénéfiques à la croissance des plantes (Khan *et al.*, 2009). L'extrait d'algue serait également un bon outil pour accélérer la décomposition de la matière organique grâce aux acides alginiques qui accroître la population bactérienne et améliorer la capacité de rétention en eau du sol (Thivy, 1964).

1.4. Effet des algues sur la croissance des plantes stressées

Dans la nature, les plantes doivent faire face à de multiples agressions. Ces dernières peuvent être d'origine climatique (froid, sécheresse), nutritionnelle (carence ou excès de nutriments) ou encore d'origine anthropique (métaux lourds, pesticides). On parle alors du stress abiotique par opposition au stress biotique qui implique l'intervention d'un second être vivant. Il peut s'agir d'un herbivore (insecte) ou d'un agent infectieux (champignon, bactérie, virus).

1.4.1. Plante sous stress abiotique

Les extraits d'algues sont connus pour leur effet sur les systèmes de défense naturels des plantes en réponse aux stress abiotiques comme la sécheresse et la salinité (Mancuso et al.

2006 ; Rayirath et al. 2009 ; Khan et al. 2009). Certains auteurs suggèrent que cette stimulation est due à la richesse des algues en nutriments, en composés bioactifs et à la présence de phytohormones et d'osmo-régulateurs, comme la glycine bêtaïne, qui permettent aux plantes de s'adapter aux stress thermique, hydrique et salin (Mäkelä et al. 1999 ; McNeil et al. 1999 ; Khan et al. 2009). Les propriétés anti-oxydantes des algues permettent à la plante de mieux gérer le stress oxydant provoqué par les radicaux libres et de mieux résister à la carence en nutriments induite par le froid (Jeannin, 1991 ; Bradacova, 2016).

1.4.2. Plante sous stress biotique

Le stress biotique englobe majoritairement les attaques d'agents pathogènes de type fongiques. La composition riche et variée en substances bioactives des algues favorise la stimulation des systèmes de défense naturels des plantes en réponse aux stress biotiques. Plusieurs études ont démontré que les extraits d'algues en pulvérisation foliaire ont la propriété de limiter les effets négatifs des attaques d'agents pathogènes fongiques ou bactériens (Mercier et al. 2001 ; Cluzet et al. 2004 ; Jayaraj et al. 2008 ; Subramanian et al. 2011 ; jannin, 2012). Les extraits d'algue permettent de diminuer la taille et le nombre des lésions des plants infectés par des bactéries phytopathogènes (Subramanian et al. 2011), ils diminuent également les attaques des nématodes et des aphides en réduisant leur fécondité. Wu et al. (1998) ont également révélé que la réduction de la fécondité du nématode par certains extraits algaux est comparable à celle du traitement par des bêtaïnes. Ces molécules présentes dans les extraits algaux pourraient donc être responsables de la protection des plantes contre les ravageurs de type nématodes ou aphides.

2. La salinité : Une menace sérieuse pour l'agriculture

Plusieurs facteurs environnementaux sont impliqués dans la diminution du rendement final d'un produit agricole ou dans l'altération de sa qualité. La sécheresse, le pH, la salinité, le déséquilibre des nutriments (toxicité et déficience minérale) et les températures extrêmes constituent, souvent, les principales contraintes environnementales affectant la production agricole (Ashraf et Foolad, 2007). Le stress abiotique est donc considéré comme principal responsable des pertes associées aux cultures, en l'occurrence, la sécheresse et la salinité sont responsables de 17 et 20% de pertes, respectivement. Alors que la température élevée ou basse est causent 40 et 15% de pertes respectivement, 8% de pertes sont liées à d'autres facteurs (Athar et Ashraf, 2009).

La salinité est l'un des principaux stressés abiotiques affectant la croissance et la productivité des plantes dans les régions arides et semi-arides (Yadav et al. 2011). C'est un facteur environnemental potentiel qui limite la croissance et la productivité des plantes (Allakhverdiev et al. 2000; Munns et al. 2006). D'après la FAO (Food and Agriculture Organisation), on estime que plus de 831 millions d'hectares de terres dans le monde sont touchés par la salinité (Martinez-Beltran et Manzur, 2005).

2.1. Effet de la salinité sur les plantes

La salinité est un stress abiotique complexe qui affecte directement la croissance des plantes (Al-Mansouri et al. 1988). Ces dernières sont classées en deux groupes, les glycophytes et les halophytes selon leurs capacités à survivre dans des conditions salines. Le développement des glycophytes est négativement affecté par le sel tandis que, les halophytes tolèrent des concentrations élevées en NaCl (Banu Doganlar et al. 2010).

La concentration élevée des différents ions de sel dans le sol, principalement le sodium et le chlore mais aussi d'autres ions (potassium, calcium, carbonate, nitrate, sulfate) provoque une diminution dans l'acquisition de l'eau par les racines des plantes (Kosová et al. 2011). Le NaCl à fortes teneurs affecte la croissance, le métabolisme et la disponibilité des nutriments qui inhibe à son tour la photosynthèse par la dégradation des pigments ; chlorophylles a et b (Ayala-Astorga et Alcaraz-Meléndez, 2010).

2.1.1. Effet de la salinité sur la germination

L'un des effets délétères du stress salin est la diminution du taux de germination et l'inhibition de la croissance, ce qui affecte le poids de la matière sèche (El-Tayeb, 2006). Les concentrations élevées en sel réduisent le potentiel hydrique, il en résulte ainsi une diminution de l'absorption de l'eau par les graines (Jamil et al. 2006).

2.1.2. Effet de la salinité sur l'absorption d'eau et de nutriments

Les fortes concentrations en Na^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} et Cl^- réduisent la disponibilité en éléments nutritifs ; inhibent le transport et saturant les sites de fixation des ions. La compétition et les interactions entre le chlore et les nitrates, le sodium et le calcium et le sodium et le potassium conduisent à un déséquilibre ionique, une déficience en nutriments et/ou une toxicité ionique (Grieve et Shannon, 1999). D'après Ashraf et McNeilly (2004), Le NaCl affecte la croissance des plantes par l'accumulation des ions à des niveaux toxiques, ce qui conduit à la diminution de la disponibilité de l'eau et de nutriments.

L'augmentation des quantités de Na^+ et de Cl^- dans le sol affecte la disponibilité des nutriments indispensables par la compétition entre les ions et par la modification de la sélectivité des membranes. Les ions Na^+ atténuent l'influx intracellulaire des ions K^+ et l'acquisition de cet élément essentiel par les cellules (Lloyd et al. 1989). La salinité (dominée par les ions Na^+) réduit également la disponibilité des ions Ca^{+2} , ce qui affecte la structure et la composition des organes végétatifs et reproductifs (Tounekti et al. 2011).

2.1.3. Génération des espèces oxygénées réactives (EOR)

Les teneurs excessives de NaCl provoquent un déséquilibre ionique et un stress hyperosmotique chez les plantes. Ceci induit un deuxième type de stress ; l'endommagement ou le stress oxydatif (Tunçtürk et al. 2011). Le stress salin provoque la génération des EOR au niveau des chloroplastes causant l'oxydation des lipides, la dégradation des protéines, l'inactivation des enzymes et la perméabilité des membranes (El-Tayeb, 2006).

2.1.4. Inhibition de la photosynthèse

La photosynthèse est considérée comme la première source de production de la matière sèche chez les plantes. La sénescence précoce des feuilles réduit considérablement le rendement agricole (Gadalla, 2009). La salinité est l'un des facteurs majeurs qui inhibent la photosynthèse elle provoque la fermeture des stomates, ce qui réduit la transpiration et empêche l'absorption de l'eau par les différents tissus de la plante (El-Kaoua et al. 2006). L'accumulation d'ions toxiques, la réduction des nutriments, la génération des espèces oxygénées réactives, la peroxydation des lipides et la perméabilité des membranes provoquent tous la sénescence des feuilles (Leidi et al. 1991).

2.2. Effet de la salinité sur la structure du sol

La structure du sol peut être définie comme le regroupement de particules primaires du sol dans les agrégats, ces derniers sont séparés entre eux par des pores dans lesquels le gaz et le liquide peuvent circuler. La structure du sol a une importance considérable sur son fonctionnement, d'une part, elle détermine la pénétration des racines dans le sol, d'autre part, elle agit sur les déplacements d'eau et d'éléments nutritifs, de la masse du sol vers les racines (Lavelle et Spain, 2001). L'augmentation de la quantité de sodium dans un sol entraîne la destruction de sa structure. Un excès de sodium favorise la dispersion des colloïdes minéraux et par conséquent la réduction de la structure poreuse du sol. La salinisation augmente ainsi

l'imperméabilité des couches profondes du sol ce qui empêche l'aération et la pénétration de l'eau nécessaire pour une croissance normale des plantes (Ghassemi et al. 1995).

3. Les algues : une alternative prometteuse au problème de salinité

La salinité devient de plus en plus un important facteur limitant la production des végétaux dans les zones arides et semi arides. Pour résoudre le problème de la salinité et afin de limiter les effets délétères du NaCl sur les plantes, certaines méthodes sont appliquées telles que le drainage et l'utilisation de l'eau d'irrigation mais elles sont assez difficiles et coûteuses ce qui limite leur utilisation. Aujourd'hui, la voie biologique constitue la stratégie la plus fiable comme l'utilisation exogène de solutés compatibles connus pour leur rôle osmoprotecteur (Ashraf et al. 2012).

Par leur composition riche en phytohormones, polysaccharides, éléments nutritifs et vitamines, les algues peuvent protéger et stimuler la croissance de la plantes dans les conditions normales ou de stress.

3.1. Les algues et les solutés compatibles

Les composés bioactifs produits par les algues marines sont très diversifiés et jouent un rôle important dans plusieurs activités biologiques telles que les processus de survie de ces organismes dans des environnements extrêmes. Les algues constituent une source majeure de solutés compatibles, pour les plantes et les bactéries dans les conditions du stress (Ghoul et al. 1995).

Les molécules à activités osmoprotectrices produites par les algues marines peuvent être divisées en plusieurs classes : hétérosides (floridoside, isofloridoside ...); alcools polyhydriques (glycérol, mannitol, sorbitol ...); sucres simples (mannose); acides aminés (proline); et des dérivés d'acides aminés (DMSP). Un grand nombre de ces mêmes solutés compatibles est communément rencontré chez les bactéries et même chez les plantes (Oren, 2007).

3.2. Les solutés compatibles

Les solutés compatibles sont des petites molécules osmolytes organiques. Ils sont dits "compatibles" car ils n'influent pas sur la physiologie et les processus cellulaires même à des concentrations intracellulaires élevées (Robert, 2005). En plus de leur action protectrice sur la cellule entière, ces solutés ont des effets significatifs sur les biomolécules, il s'agit de la stabilisation des protéines et des structures d'acides nucléiques (Matthias, 2008).

Ces osmolytes peuvent être synthétisées par la cellule (endogènes) ou importés du milieu (exogènes), leur accumulation contribue à maintenir la pression de turgescence interne, le volume des cellules et la concentration d'électrolytes, tous des éléments importants de la prolifération cellulaire (Robert, 2005).

3.3. Les différents types de solutés compatibles

Les solutés compatibles peuvent être des sucres (saccharose, tréhalose), des dérivés de sucres (sulfotréhalose, glucosylglycérol), certains acides aminés et dérivés (proline, acide glutamique, glutamine, glycine bêtaïne), éctoïne et dérivés et des polyalcools (glycérol, arabitol, mannitol) (Karima, 2007). Les solutés compatibles sont soit synthétisés par l'organisme lui-même ou bien importés à partir du milieu extérieur.

3.4. Le rôle des solutés compatibles

Les solutés compatibles sont divisés en deux classes :

- Les éléments de la première classe n'ont aucun effet de stimulation de la croissance des cellules en milieu à forte osmolarité.
- Les autres, par contre, ont un effet remarquable de stimulation des paramètres de croissance lorsqu'ils sont ajoutés au milieu. Ce sont les « osmoprotecteurs » (Ghoul, 1990).

Ces composés vont réduire l'effet du stress sur les plantes d'une part, et fournir une source d'azote et d'énergie à la plante, d'autre part. La proline et la glycine bêtaïne améliorent la croissance des céréales en présence de différents stress abiotiques (Ashraf and Foolad, 2007).

Ils jouent un rôle majeur dans la synthèse protéinique, en maintenant l'association entre l'ARNt et le ribosome au cours de la traduction (Flowers et Colmer, 2008). La présence de ce type de molécules permet à une grande variété de vivants de résister aux conditions extrêmes telles que les variations de température et la salinité élevée (Smiatek et al. 2011), elles jouent un rôle essentiel dans la stabilisation des protéines et des membranes pendant les dommages oxydatifs induits par les « EOR » (Saxena et al. 2013). Ainsi, plusieurs études ont découvert que de nombreux organismes hyperthermophiles accumulent des solutés compatibles dans leurs cytoplasmes pour faire face aux températures plus élevées que celles qu'ils peuvent tolérer (Silva et al. 1999).

4. Mode d'applications des algues

Les algues peuvent être utilisées sous plusieurs formes (biomasse, poudre ou extrait liquide). Les extraits liquides sont les plus utilisés puisqu'ils donnent rapidement les mêmes effets des algues déjà décomposées et compostées, alors que l'application d'algues fraîches sur un sol nécessite normalement leur décomposition pendant plusieurs semaines avant de pouvoir effectuer le semis. Ces extraits liquides combinent donc facilité de transport (conditionné en bidons) et facilité d'utilisation : ils peuvent être appliqués soit directement sur le sol, soit en pulvérisation foliaire en combinaison avec d'autres traitements fertilisants ou phytosanitaires (Jannin, 2012).

Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Maîtrise des Energies Renouvelables (Equipe Biomasse et Environnement). Les expériences ont été menées durant une période de 4 mois (Février-Mai 2018). Elles ont été divisées en trois grandes parties :

- La première partie comporte l'ensemble des tests visant l'étude des effets de l'extrait d'algue marine *Cystoseira* sp. sur la croissance des petits pois.
- La seconde étape comporte les différents tests d'activité biologique de l'extrait d'algue (Activité antifongique et anti-oxydante).
- La troisième partie comporte l'étude de la stimulation et la restauration de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin par l'extrait d'algue.

Partie I : Effet de l'extrait de l'algue *Cystoseira* sp. sur la croissance des petits pois

1. Collecte des algues

La collecte de l'algue brune *Cystoseira* sp. est effectuée par l'équipe du laboratoire de Maîtrise des Energies Renouvelables en Mars 2017 dans la côte Ouest de la wilaya de Bejaïa (Boulimat 36°48'42.1"N 4°58'53.9"E).



Figure 1 : Site de prélèvement de l'échantillon d'algue marine

2. Préparation de la poudre d'algue

Les algues cueillies sont lavées et séchées à l'air libre (à l'abri de la lumière solaire directe). Le broyage des échantillons est réalisé dans un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, cette dernière est tamisée à l'aide d'un tamis de 2 μm , puis conservée dans des pots en verre fumé.

3. Préparation de l'extrait d'algue

10 g de la poudre d'algue sont homogénéisés avec 100 ml d'eau distillée, la suspension est autoclavée pendant 20 min/120°C, puis laissée au repos. Enfin, le surnageant est récupéré dans des flacons fumés. L'extrait est considéré concentré à 100%. La dilution 50% est préparée dans l'eau distillée, afin de tester l'effet des deux concentrations sur les différents paramètres de croissance des petit pois.

4. Effet de l'extrait d'algue sur la croissance des petits pois

4.1. Désinfection de la surface des graines

Les graines de petits pois *Pisum sativum* variété Merveille (provenant de la société algérienne PROFERT de Bejaia) sont trempées dans l'éthanol (70%) pendant 1min sous agitation douce, par la suite, elles sont retirées et remises dans une solution d'hypochlorite de sodium (Eau de Javel) à 12% pendant 15 min. Pour se débarrasser du chlore, six lavages successifs à l'eau distillée stérile sont enfin appliqués (15 minutes au minimum) (Götz et al. 2006)

4.2. Protocole expérimental

Six expériences ont été réalisées, chaque expérience consiste en 13 pots, la figure ci-dessous illustre les étapes de chaque expérience.

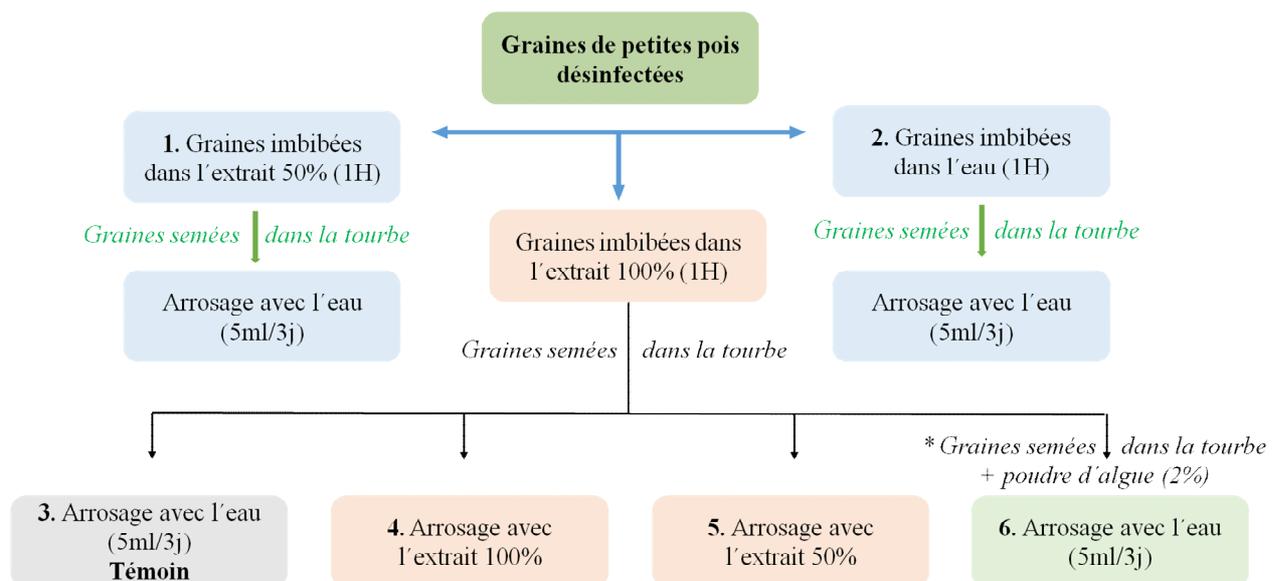


Figure 2 : Schéma illustrant les différentes expériences réalisées

Les graines de petits pois sont trempées dans l'extrait d'algue (50% ou 100%) ou dans l'eau pendant 1h à température ambiante. Après 1 heure de contact avec l'extrait d'algue ou l'eau, les graines sont semées à raison d'une graine par pot à une profondeur de 1 cm. Les extraits d'algues sont ajoutés à raison de 1 ml/pot chaque trois jours. Les graines sont arrosés chaque 3 jours avec 5 ml d'eau de robinet.

Les expériences sont réalisées dans des conditions naturelles à température de 23-28°C pendant 20 jours.

5.3. Evaluation des paramètres de croissance végétale

Les paramètres de croissance suivants sont mesurés :

- Longueur des tiges (cm) ;
- Longueur des racines (cm) ;
- Poids frais des tiges et des racines (g) ;
- Poids secs des tiges et des racines (mg) ;



Figure 3 : Quelques étapes d'évaluation des paramètres de croissance des petits pois

5.3. Dosage de la teneur en chlorophylle

La teneur en pigments photosynthétiques est déterminée selon la méthode de Hiscox et Tsraelstam (1979). Pour cela, 100 mg de matière fraîche sont découpés puis placés dans un flacon contenant 7 ml de DMSO (Diméthylsulfoxyde). Le mélange est incubé à 65°C/30 min. Après incubation, l'échantillon est transféré dans une éprouvette de 25 ml et le volume est

ajusté à 10 ml avec le DMSO. L'absorbance est enregistrée immédiatement à 645 et 663 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (SHIMADZU UV 1800). Les teneurs en chlorophylle a, b et totale sont déterminées suivant les équations établies par Arnon (1949).

$$Chla(g\ l^{-1}) = 0.0127 \times A663 - 0.00269 \times A645;$$

$$Chlb(g\ l^{-1}) = 0.0229 \times A645 - 0.00468 \times A663;$$

$$Chl\ totale\ (g\ l^{-1}) = 0.0202 \times A645 + 0.00802 \times A663.$$

4. Analyse statistique

Les données relatives aux paramètres de la croissance ont fait l'objet d'une analyse statistique en utilisant le logiciel GraphPad PRISM version 6.01. Le test de l'analyse de la variance MANOVA (Test Fischer LSD) a été appliqué ($p < 0.05$).

Partie II : Activité antifongique et anti-oxydante de l'extrait d'algue

1. Les espèces fongiques

Cinq espèces de champignons phytopathogènes sont testées, il s'agit d'*Aspergillus niger* ; *Fusarium oxysporum* ; *Alternaria sp.* ; *Mucor sp.* et *Penicillium sp.* Ces champignons font partie de la collection du laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelable, équipe de Biomasse et Environnement de l'université de Bejaia. La revivification est réalisée par repiquage dans le milieu PDA (Annexe I) suivi d'une incubation à 25°C/2 à 3 jours.

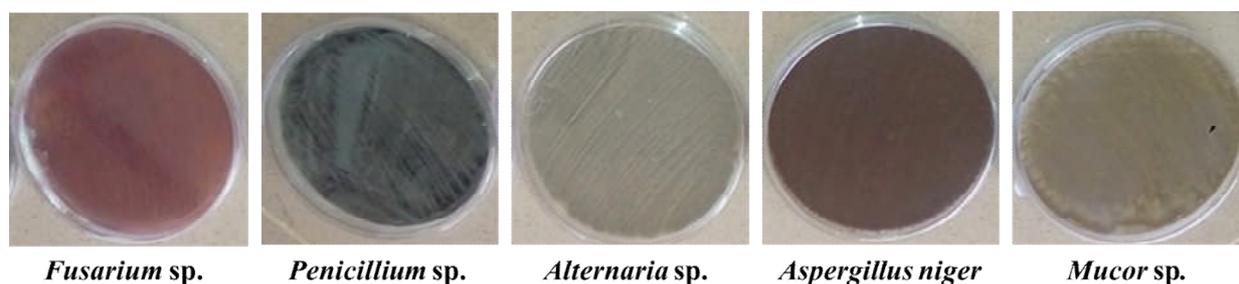


Figure 4 : Les espèces fongiques étudiées.

2. Préparation des extraits d'algue

2.1. Préparation de l'extrait aqueux autoclavé

10 g de la poudre d'algue sont homogénéisés avec 100 ml d'eau distillée, la suspension est autoclavée 20 min/120°C puis laissée au repos. L'extrait est centrifugé à 10000 rpm /10 min. Enfin, le surnageant est récupéré dans des flacons fumés et conservées à 4°C.

2.2. Préparation de l'extrait éthanolique

L'extrait est obtenu en réalisant une macération de 10g de poudre d'algue dans 100ml d'éthanol. Après 24h d'extraction à température ambiante et sous agitation, une filtration est réalisée avec du papier whatman. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à 40°C, l'extrait obtenu est récupéré par Diméthylsulfoxyde (DMSO) puis conservé dans des tubes à 4°C à l'obscurité.

2.3. Préparation de l'extrait aqueux à froid

10 g de poudre d'algue sont homogénéisés dans 100 ml d'eau distillé puis laisser sous agitation 24h à température ambiantes. L'extrait récupéré est centrifugé à 10000 rpm/ 10 min. Enfin, le surnageant est récupéré dans des flacons fumés et conservées à 4°C.

3. Test d'activité antifongique des extraits de *Cystoseira* sp.

Le milieu de culture utilisé pour le test antifongique est le milieu PDA. Ce test a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu solide (Vinod et al. 2010) en mesurant les diamètres des zones d'inhibition. L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, il consiste à tremper un écouvillon stérile sur la culture fongique, puis le frotter à trois reprises sur toute la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60 ° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque test, 10 boîtes de Pétri sont écouvillonnées, (2 boîtes pour chaque extrait ; 2 boîtes pour le témoin positif et 2 boîtes pour le témoin négatif).

Des disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre ont été préparés, stérilisés puis déposés à la surface des boîtes ensemencées à raison de 3 disques par boîtes. 10 µl d'extrait sont déposés à la surface des disques. Une solution d'antifongique commercial préparée à une concentration de 8 mg/ml et le DMSO sont utilisés comme témoin positif et négatif, respectivement. Les boîtes sont mises à 4 °C/2 h, puis incubées à 25°C/48- 72 h.

Afin de garantir des conditions expérimentales comparables, trois dépôts de même extrait sont placés dans la même boîte. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition est mesuré.

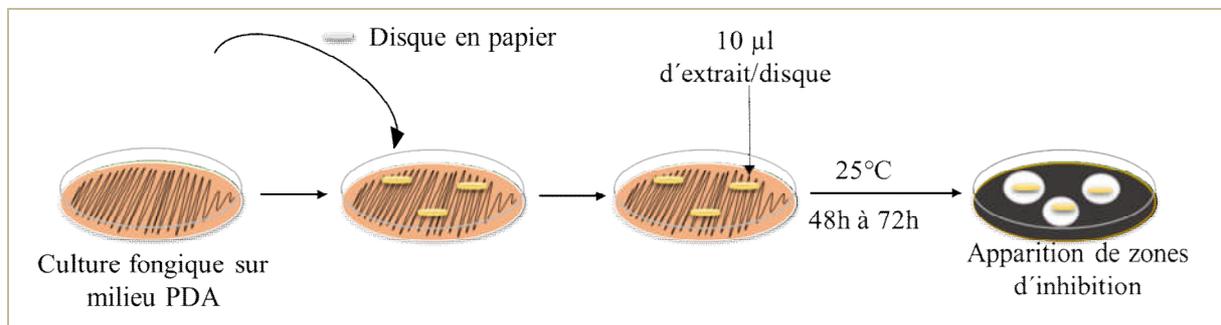


Figure 5 : Mise en évidence de l'effet antifongique des extraits d'algue

4. Test d'activité anti-oxydante des extraits de *Cystoseira* sp.

4.1. Dosage des polyphénols

- **Principe**

Les polyphénols sont dosés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et al. 1965). Ce réactif de couleur jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique. Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en un complexe de couleur bleue constitué

d'oxyde de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la teneur des composés phénoliques oxydés.

- **Mode opératoire**

Un volume de 100 µl d'extrait est introduit dans des tubes à essai contenant 750 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10%) et 750 µl de carbonate de sodium (6%). Les tubes sont agités et incubés à l'obscurité durant 30 min à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée à 765 nm.

Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en acide gallique par gramme de matière sèche d'algue (mg EqC/g MS). La courbe d'étalonnage est obtenue, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant comme étalon l'acide gallique (Annexe II).

4.2. Dosage des Flavonoïdes

- **Principe**

La formation des complexes jaunâtres, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium, est due à la fixation des ions Al^{3+} sur les atomes d'oxygène présents sur les atomes de carbone 4 et 5 des flavonoïdes (Ribereau-Gayon, 1968).

- **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de la solution d'extrait éthanolique (préparé dans l'éthanol), aqueux autoclavé ou à froid (préparé dans l'eau distillé) est ajouté à 1 ml d' $AlCl_3$ (2%) préparé dans le méthanol. Le mélange est vigoureusement agité, puis incubé à l'abri de la lumière à température ambiante /30 min. L'absorbance est mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes de l'extrait est obtenue en se référant à une courbe d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche d'algue (mg EQ/g Ps) (Kosalec et al. 2004).

La courbe d'étalonnage est obtenue, dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant comme étalon la Quercétine (Annexe II).

4.3. Mesure de l'activité anti-oxydante

Les propriétés anti-radicalaires des extraits d'algue sont évaluées par deux tests : le test de piégeage du radical diphénylpicryl-hydrazyl (DPPH•) et la mesure de pouvoir réducteur

4.3.1. Effet scavenger du radical DPPH

- **Principe**

La méthode de DPPH est basée sur la mesure spectrophotométrique du changement de la concentration du radical DPPH résultant de la réaction de DPPH• avec un antioxydant. Au

cours de la réaction, les antioxydants (donneurs de H) réagissent avec le DPPH[•], qui sera réduit au DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Fig. 6). Par conséquent, la couleur de la solution change du violet au jaune pâle et l'absorbance diminue. Le degré de décoloration indique le potentiel de l'activité anti-oxydante des extraits en termes de capacité de donneur d'hydrogène (Brand-Williams et al. 1995).

- **Mode opératoire**

1 ml de DPPH[•] est ajouté à 100µl de chaque extrait. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition de radical DPPH[•], et calculée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Abs Témoin} - \text{Abs échantillon})}{\text{Abs Témoin}} \times 100$$

- Abs Témoin: Absorbance du témoin ;

-Abs échantillon : Absorbance de l'échantillon.

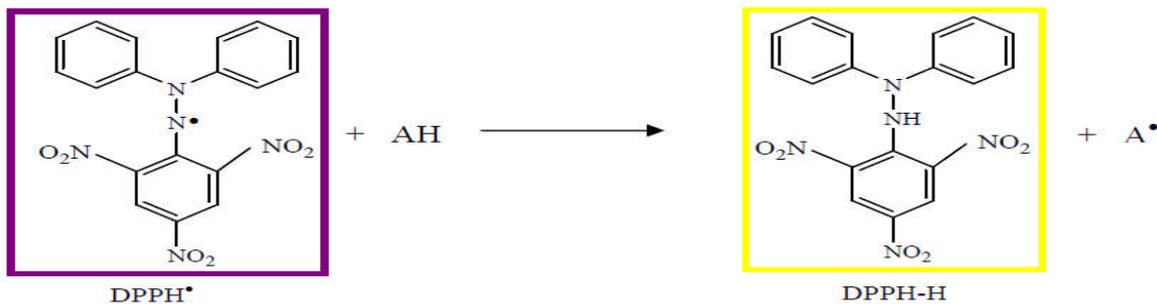
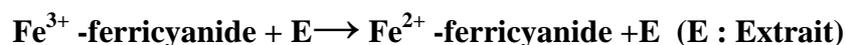
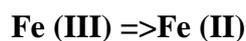


Figure6 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Endo et al., 2006)

4.3.2. Pouvoir réducteur

- **Principe**

Le pouvoir réducteur des extraits de *Cystoseira* sp. sont mesurés par la réduction directe des électrons de ferricyanure de potassium selon la réaction chimique suivante :



La formation du complexe coloré en bleu, est obtenue par l'addition des ions Fe³⁺ libres après la réaction de réduction. Ce complexe est quantifié par la mesure de l'absorbance à 700 nm (Ribeiro et al. 2008).

- **Mode opératoire**

Le dosage du pouvoir réducteur est effectué selon la méthode décrite par Gülçin et al. (2002). 500µl d'extrait sont mélangés avec 1,25 ml du tampon phosphate à (pH 6,6 ; 0,2 M) et 1,25 ml de ferricyanure de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] à (1%). Le mélange est mis dans un bain marie à 50°C/ 20 min, puis 1,25 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont additionnés au mélange et le tout est centrifugé à 3000 g/ 10 min. 1,25 ml du surnageant sont prélevés puis additionnés à 1,25 ml d'eau distillée et 0,25 ml de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à (0,1 %). Enfin, la détermination de l'absorbance est effectuée à 700 nm.

Les résultats sont exprimés en mg Equivalent en acide ascorbique par gramme de matière sèche d'algue (mg Eq AA/g MS). La courbe d'étalonnage (Annexe II) est obtenue, en utilisant comme étalon l'acide ascorbique.

Partie III : Effet des extraits d'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin

Cette partie a pour objectif de mettre en évidence l'effet des extraits l'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la germination et de la croissance de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) cultivé sous stress salin.

Avant de procéder à cette expérience, nous avons jugé utile de déterminer l'halotolérance des graines de l'orge pour pouvoir choisir la concentration en NaCl à appliquer.

1. Détermination de l'halotolérance des graines de l'orge

1.1. Désinfection de la surface des graines

Les graines de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) sont trempées dans l'éthanol (70%) pendant 1 min sous agitation douce, par la suite, elles sont retirées et remises dans une solution d'hypochlorite du sodium (Eau de Javel) à 12% pendant 15 min. Pour se débarrasser du chlore, six lavages successifs à l'eau distillée stérile sont enfin appliqués (15 minutes au minimum) (Götz et al. 2006)

1.2. Protocole expérimental (Ramado et al. 2013)

Des disques en papier absorbant d'un diamètre égal à celui des boîtes de Pétri sont préalablement stérilisés au four Pasteur à 180°C/30 min puis placés dans les boîtes de Pétri. Ces disques sont par la suite imbibés avec l'eau de robinet (Témoin), ou d'une solution salée (50 mM ; 100 mM ; 150 mM ; 200 mM ; 250 mM ; 300 mM ; 350 mM et 400 mM) à raison de 6 ml/boîte. Les graines d'orge stériles, trempées dans l'eau de robinet pendant 1 h à température ambiante, sont déposées dans les boîtes de pétri à raison de 13 graines/boîtes. L'expérience est réalisée à l'obscurité à une température moyenne de 25°C. Le suivi de la germination est effectué durant 15 jours en dénombrant chaque jour les graines germées dans chaque boîte. Une graine est considérée comme germée après la sortie de l'embryon de la cuticule. A la fin de l'expérience, le pourcentage final de germination, le taux de germination ainsi que la vitesse de germination dans chaque boîte sont déterminés.

2. Effet des extraits de *Cystoseira* sp. sur la germination des graines sous stress salin

Après avoir déterminé l'halotolérance des graines d'orge, la concentration 350 mM est utilisée comme source de stress.

Le protocole est similaire au protocole expérimental de la section (1.2). Dans ce test les disques sont imbibés avec de l'eau de robinet (Témoin), la solution saline 350 mM, les extraits d'algue 50% et 100% et les extraits avec la solution saline (Cys 50%/350 mM, Cys 100%/350Mm) (fig. 6). Le suivi de la germination est effectué durant 15 jours en dénombrant chaque jour les graines germées dans chaque boîte. A la fin de l'expérience, le pourcentage de germination dans chaque boîte est déterminé.

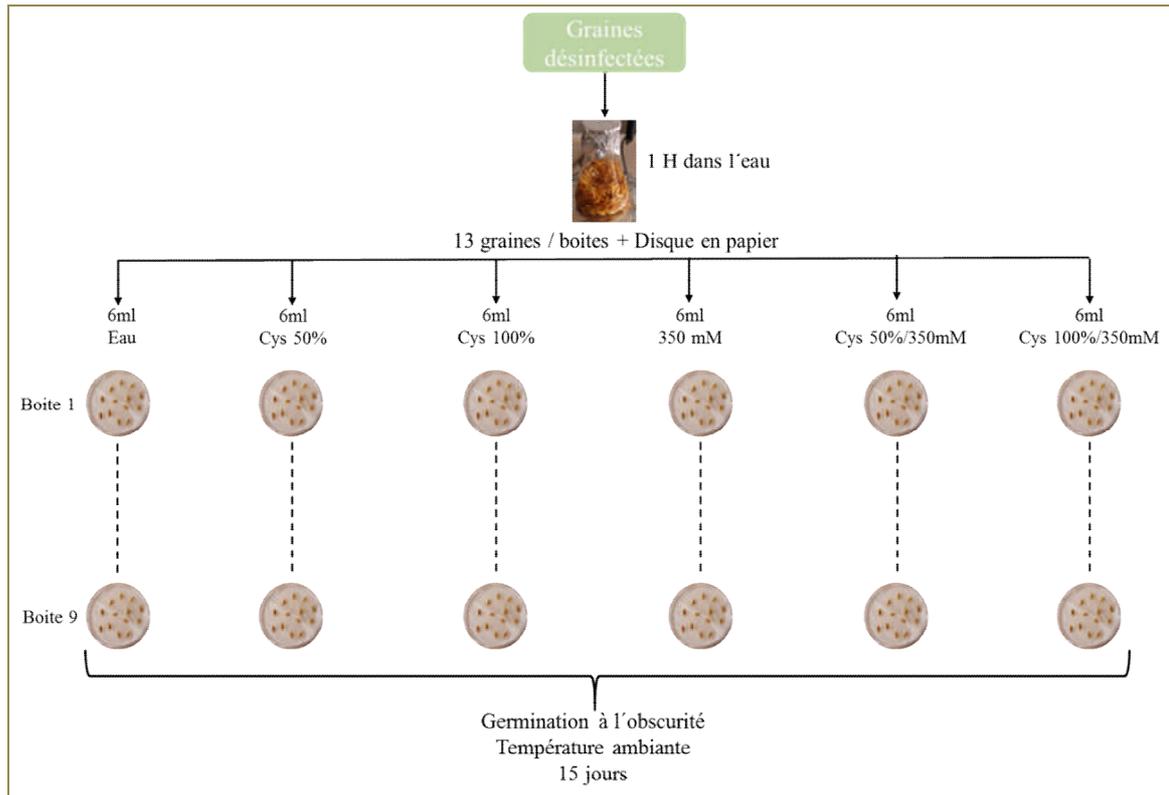


Figure 7 : Schéma illustrant les différentes étapes du test de germination sous stress salin

3. Effet des extraits de *Cystoseira* sp. sur la croissance de l'orge sous stress salin

Après 1 heure de contact avec l'eau, les graines sont semées. L'expérience est réalisée en 9 pots, les graines sont plantées à raison de 3 graines par pot à une profondeur de 1 cm. Six expériences sont effectuées :

Expérience 1 : Témoin, graines semées dans le sol et arrosées avec de l'eau de robinet (5ml/pot).

Expérience 2 : Graines semées dans le sol et arrosées avec l'extrait de Cys 50% (5ml/pot).

Expérience 3 : Graines semées dans le sol et arrosées avec l'extrait de Cys 100% (5ml/pot).

Expérience 4 : Graines semées dans un sol salin.

Expérience 5 : Graines semées dans un sol salin et arrosées avec l'extrait de Cys 50% (5ml/pot).

Expérience 6 : Graines semées dans un sol salin et arrosées avec l'extrait de Cys 100% (5ml/pot).

L'expérience est réalisée dans des conditions naturelles à température 23-28°C pendant 15 jours. Les paramètres : longueur, poids frais, poids sec des tiges ainsi que la chlorophylle a, b et totale sont mesurés.

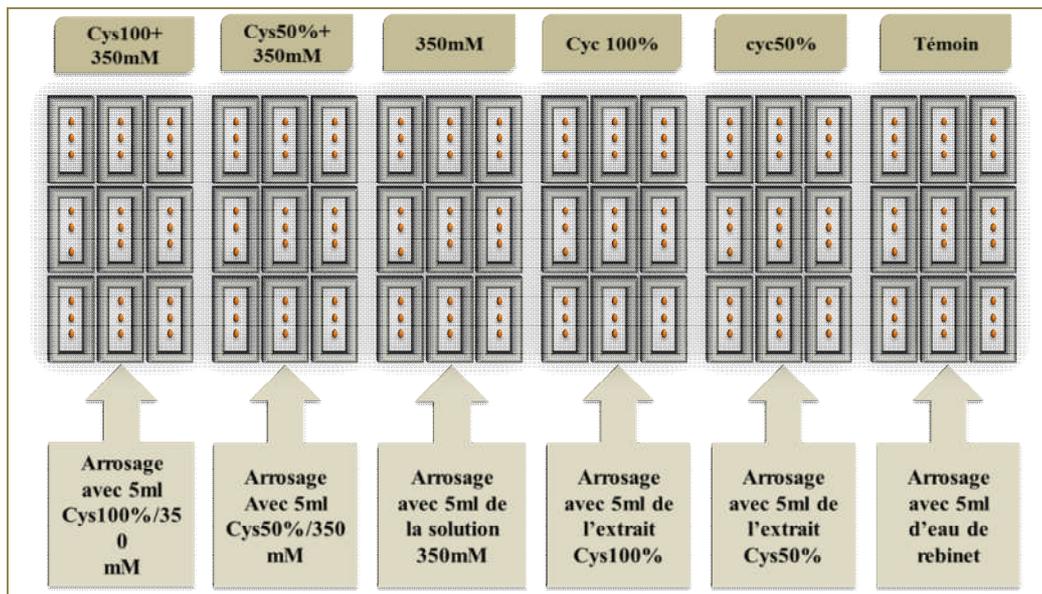


Figure 8 : Schéma illustrant les différentes étapes du test de croissance sous stress

L'effet du stress salin et des extraits d'algues sont également évalués par la mesure des paramètres Intégrité membranaire ; peroxydation des lipides et le dosage du peroxyde d'hydrogène.

3.1. L'intégrité membranaire (Singh et al. 2008)

20g de feuilles de l'orge lavées avec de l'eau distillée sont placés dans des flacons fermés contenant 20ml d'eau distillée et incubées à 25°C pendant 2 heures. La conductivité électrique de la solution (C1) est mesurée à l'aide d'un conductimètre électrique (HANNA instruments, HI98129). Les échantillons sont passés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes et la conductivité électrique (C2) est obtenue après stabilisation à 25°C. Cette mesure révèle le maximum de fuites d'ions. La fuite d'électrolytes est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Intégrité membranaire (\%)} = \frac{C1}{C2} \times 100$$

3.2. Peroxydation des lipides

La peroxydation des lipides est un mécanisme en chaîne de dégradation des acides gras membranaires conduisant à la formation d'hydroperoxydes (ROOH) instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire en altérant son fonctionnement. La peroxydation des lipides est estimée par l'évolution de la teneur en malondialdéhyde (MDA), produit de la dégradation oxydative des lipides et des acides gras insaturés, qui est déterminée selon la méthode décrite par (Prasad et al. 1995).

50mg du matériel végétal sont broyés et dilués dans 4ml d'acide trichloracétique TCA (20%). Cette procédure sert à assurer la libération des radicaux libres présents dans l'échantillon. Ainsi, le réactif choisi permettra la précipitation de ces radicaux libérés. Le niveau du MDA servira comme indice de peroxydation lipidique, et le résultat sera donc exprimé en mg de MDA. 1ml d'extrait est prélevé puis centrifugé à une vitesse de 10000tr/min pendant 10 minutes à 4°C. 0,5ml du surnageant sont additionnés à 2ml de l'acide thiobarbiturique TBA 0,5%. Le mélange est finalement incubé à 95°C pendant 30 minutes suivi d'un refroidissement rapide sur la glace. L'absorbance du surnageant est lue à 532nm, et la teneur en MDA est calculée par la loi de Beer-Lambert : $DO = \epsilon.C.l$, en utilisant le coefficient d'extinction molaire du MDA ($\epsilon = 155 \text{ l. mmol}^{-1}. \text{ cm}^{-1}$).

3.3. Dosage de la production de H₂O₂

Le but de ce test est de révéler l'influence des extraits d'algue sur la stimulation de la réaction de défense de la plante via la voie du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). L'effet de l'extrait sur la production de H₂O₂ est déterminé au niveau des feuilles pour le stade adulte selon la méthode de (Velivoka et al. 2000).

50 mg du matériel végétal sont broyés dans 2,5ml d'acide trichloracétique TCA (0,1%). 1ml de l'extrait obtenu est centrifugé à une vitesse de 12000tr/min / 15min. 0,5ml du surnageant sont mélangé avec 0,5ml du tampon phosphate 10mM (pH 7) et 1 ml d'iodure de potassium 1M. L'absorbance du surnageant est lue à 390nm, et la production de H₂O₂ est calculée grâce à son coefficient d'extinction spécifique ($0.28 \mu\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

4. Analyse statistique

Les données relatives aux paramètres de la croissance sous stress salin ont fait l'objet d'une analyse statistique en utilisant le logiciel GraphPad PRISM version 6.01. Le test de

l'analyse de la variance ANOVA (Test Fischer LSD) et le test t de Student sont appliqués ($p < 0.05$).

Partie I : Effet de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la croissance des petits pois

Les résultats des études de l'effet de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la stimulation de la croissance des petits pois sont analysés statistiquement par le test MANOVA dont le seuil d'erreur $p \leq 0,05$. Les valeurs des paramètres analysés sont présentés par la moyenne \pm écart type.

1. Effet de l'extrait *Cystoseira* sp. sur les paramètres de croissance des petits pois

Les valeurs de différents paramètres de croissance des petits pois traités ou non avec la poudre ou l'extrait de *Cystoseira* sp. à différentes concentrations (50% et 100%) sont présentés dans les graphes de la figure 9.

Figure 9: Valeurs des paramètres de croissance des petits pois cultivé en présence ou en absence d'extrait d'algue *Cystoseira* sp.

ns : Non significative ($p \geq 0,05$) ; * : $p \leq 0,05$, ** : $p \leq 0,01$

D'après les résultats obtenus, les cinq traitements (Arr C50 ; Arr C100 ; Imb 50 ; Imb 100 et poudre) stimulent significativement la longueur des tiges. Le degré de significativité varie selon les expériences ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Cependant sur la longueur des racines, seulement la concentration 100% (Arr C100 et Imb C100) montre un effet remarquable ($p < 0,01$), les autres expériences ne montrent aucun effet significatif ($p \geq 0,05$).

Sur le paramètre poids frais des tiges et racines, toutes les expériences ont révélé une légère déférence comparée au témoin non traité, à l'exception de l'extrait 50% (Imb C50%) qui a stimulé significativement la croissance des tiges et des racines ($p < 0,05$).

Les traitements Imb 100% et Imb 50% ont positivement influencé le poids sec des tiges, les autres résultats ne présentent aucun effet significatif. Concernant les résultats de l'application de l'extrait d'algue sur le poids sec des racines, l'effet positif est obtenu avec les traitements 100% (Arr C100% ; Imb C100%) et Imb 50%.

L'utilisation de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. comme biostimulant, montre un effet variable sur les différents paramètres de la croissance des petits pois. Cet effet dépend de la dilution utilisée (50% et 100%) et du type de traitement. Plusieurs auteurs ont rapporté que la

concentration des extraits d'algues influence leur effet biostimulant (Sivasankari et al. 2006 ; Sridhar et Rengasamy, 2010 ; Anisimov et al., 2010 ; Craigie, 2011; Kumar et Sahoo, 2011 ; Anisimov et al. 2013).

Les résultats obtenus dans cette étude montrent une certaine similitude avec ceux de Matysiak, (2010) sur l'effet d'un produit biostimulant à base de *Sargassum* spp. (Algamino) appliqué sur des grains de maïs. Ce produit à une concentration de 0,5% a augmenté le taux de germination de 10 à 19% et le poids de la biomasse racinaire de 8 à 11%. Roussos et al. (2009) montrent que des plants de fraisiers traités en pulvérisation foliaire avec un extrait d'algue brune *Ascophyllum nodosum* présentent une augmentation significative du poids des fruits produits comparé à des plants non traités. Les mêmes auteurs ont rapporté que des résultats similaires ont été obtenus lors de la pulvérisation foliaire d'acide gibbérellique (AG) et ils ont suggéré ainsi que les effets des extraits algaux seraient dus aux phytohormones qu'ils contiennent et en particulier à l'AG.

Sivasankari et al. (2006) obtiennent quant à eux une augmentation du pourcentage de germination pour des graines de vigne soumises à des extraits de *Cauler pachemnitzia* et de *Sargassum wightii*. Le taux de germination est proportionnel à l'augmentation de la concentration de l'extrait entre 5 et 20 % (v/v), puis diminue pour des concentrations comprises entre 20% et 50%. Au-delà d'une concentration en extrait algal de 50%, la germination est inhibée.

Dans notre étude, les extraits de *Cystoseira* sp. 50% et 100% ont positivement influencé les paramètres de croissance des petits pois. Bensidhoum et al. (2018), ont rapporté que l'extrait 50% d'une algue *Cystoseira mediterranea* a stimulé significativement la croissance des différents paramètres de croissance de l'orge.

Les résultats de Kumari (2011) ont révélé une corrélation entre les concentrations d'extrait utilisées et les teneurs en composés nutritionnels. Pour un extrait à 10 %, les augmentations suivantes sont obtenues par rapport au témoin négatif: protéines de 40 à 100 mg/g, phénols de 3 à 10 mg/100 g, lycopène de 3 à 7 mg/100 g et vitamine C de 75 à 175 mg/100 g. L'application des extraits a aussi augmenté les pigments chlorophylliens, les hormones de croissance et le nombre de racines.

Il faut également signaler que la croissance des plantes est influencée par plusieurs facteurs physiologiques et environnementaux. Les producteurs ont tenté de stimuler la formation des racines par l'utilisation des régulateurs de croissance sous forme de produit chimique. Cependant, ces derniers génèrent plusieurs problèmes environnementaux (Salantur et al. 2005). Zodap et al. (2001), supposent que les effets bénéfiques des extraits d'algues sont

liés à leur composition en molécules impliquées dans la stimulation directe de la croissance des plantes (AIA, cytokinines, gibbérelline, éléments nutritif, vitamine et acides aminés).

Selon Khan et *al.* (2009) ; Craigie (2011) et Battacharyyaet *al.* (2015), les effets des algues sur la croissance des plantes sont dus à une multitude de composés qu'elles contiennent (hormones, polysaccharides, laminarines, alginates et carraghénanes, ainsi que leurs produits de dégradation, des micros et macronutriments, stérols, des composés azotés et des vitamines).

En règle générale, cette stimulation de la croissance des plantes se traduit par une plus grande vigueur conduisant à une augmentation du rendement ainsi que de la qualité et de la taille des fruits produits. A titre d'exemple, Rathore et al.(2009) à montrent chez le soja une augmentation de la vigueur des plantes (hauteur des plantes, nombres de branches et de gousses par plante plus élevés) et du rendement suite à une pulvérisation foliaire par un extrait de *Kappaphycusalvarezii*.

2. Effet de l'extrait *Cystoseira* sp. sur la teneur de petits pois en chlorophylle

Le dosage de la chlorophylle est effectué dans le but de vérifier l'effet de l'extrait d'algue à différentes concentrations sur la teneur de petits pois en chlorophylle. Le graphe ci-dessous illustre les valeurs des chlorophylles a, b et totale obtenues chez les petits pois traités par différentes concentrations d'extrait de *Cystoseira* sp.

Fig. 10 : Teneurs de chlorophylles a, b et totale des petits pois cultivés en présence des différentes concentrations d'extrait de *Cystoseira* sp.

ns : non significative

D'après les résultats obtenus, l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. à différentes concentrations ne présente aucun effet significatif sur la teneur des petits pois en chlorophylle.

Des études récentes ont démontré que l'extrait de la même algue, a augmenté la quantité de la chlorophylle contenue dans les feuilles d'orge, où les concentrations 50% (0.05 g/ml) et 30% (0.03 g/ml) ont significativement stimulé la quantité de la chlorophylle a , b et la chlorophylle totale comparé au témoin (Bensidhoum et *al.* 2018).

L'augmentation de la teneur en chlorophylles des feuilles de vigne et de fraisier a été remarquée après traitement de ces plantes avec des extraits d'algues (Mancuso et al. (2006) ;

Spinelli et *al.* (2010). D'après Sridhar et Rengasamy (2010), l'augmentation de la quantité de la chlorophylle totale et les chlorophylles a et b des plantes traitées par les extraits d'algues serait due à la composition d'algues en magnésium qui est un constituant de la chlorophylle. Stephenson (1974) a rapporté que la concentration de l'extrait d'algue influence la teneur en chlorophylle et d'après le même auteur, les extraits d'*Ascophyllum* sp. Et *Laminaria* sp. à faible concentration se sont avérés plus actifs que les extraits concentrés.

Dans la présente étude, l'absence d'effet positif sur le paramètre teneur en chlorophylle est peut-être dû au type du traitement appliqué (arrosage ou imbibé dans l'extrait), aux concentrations choisies (50% et 100%) ou à la courte durée du test (15 jours).

A Travers ces différents études les résultats obtenus, les facteurs favorisant la croissance des plantes par les extraits d'algues marines sont très variés, ce la suppose qu'ils dépendent probablement de la nature de l'algue, des éléments bioactifs qu'elle contient, de sa concentration mais également du type de culture et des conditions de l'environnement.

Partie II : Activité antifongique et anti-oxydante de l'extrait d'algue

1. Activité antifongique des extraits d'algue

Les résultats de l'étude de l'activité antifongique des extraits d'algue sont présentés dans la figure suivante :

Après 48 heures d'incubation, les diamètres d'inhibition de la croissance mycélienne sont mesurés. Le graph ci-dessous illustre les valeurs des différents diamètres des zones d'inhibition des espèces fongique obtenues par les extraits d'algue.

Figure 11 : Valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des espèces fongiques par les extraits d'algue

ATF : Antifongique ; EAA : Extrait Aqueux Autoclavé ; EAF : Extrait Aqueux à Froid ; EEA : Extrait Ethanolique

L'étude de l'activité antifongique des extraits testés repose sur le calcul du diamètre de la zone d'inhibition de la croissance mycélienne. Les résultats des essais antifongiques vis-à-vis les espèces *Alternaria* sp. , *Aspergillus niger.*, *Fusarium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp. révèlent une variation des valeurs d'inhibition par les extraits de *Cystoseira* sp.

Comparé aux deux autres extraits, l'extrait éthanolique semble être le plus actif des extraits. Il exhibe un effet inhibiteur sur tous les champignons testés. Les diamètres des zones d'inhibition varient entre 0,65 cm (*Alternaria* sp.) et 3 cm (*Fusarium* sp.). Quant aux effets d'extrait aqueux, seul l'extrait aqueux autoclavé a inhibé modérément la croissance d'un seul champignon (*Fusarium* sp.) avec un diamètre de 1.4 cm. L'extrait aqueux à froid n'a révélé aucune activité antifongique.

La variabilité de ces résultats pourrait être expliquée par le fait que ce solvant (éthanol) permette une meilleure extraction des substances ayant un effet inhibiteur. Ainsi, l'extrait éthanolique obtenu à partir de l'algue *Cystoseira* sp. à un effet inhibiteur remarquable sur toutes les souches fongique. Galal et al. (2011) et Khallil et al. (2015) ont rapporté que les extraits de *Cystoseira* présentent une forte activité inhibitrice d'*Alternaria* sp. et d'*Aspergillus niger*. L'étude de l'activité des extraits, éthéré et dichlorométhanolique, vis-à-vis du champignon *A. niger*, montre que seuls les extraits obtenus à partir des espèces *Cystoseira* et *Fucus* inhibent la croissance mycélienne (Ayadi, 1997 ; Moujahid et al. 2004). Les tests antifongiques réalisés avec des extraits d'algue brune induisent une inhibition marquée de certains champignons comme *Aspergillus* et une analyse chromatographique montre que ces extraits renferment des substances de nature terpénique responsables de l'activité inhibitrice obtenue (Moreau, 1984).

Les effets inhibiteurs de ces extraits sont probablement dus aux composés phénoliques dont les algues brunes contiennent des teneurs élevées, D'autres substances de type terpène ont été isolées à partir du genre *Cystoseira* (Glombitza, 1979).

L'absence de l'activité avec l'extrait aqueux ne diminue en rien l'importance et la valeur des algues marines, car ces dernières sont potentiellement actives avec d'autres solvants (ex. Ethanol) d'extraction et à l'égard d'autre champignons.

L'absence de l'activité avec les extraits aqueux pourrait être due au choix du solvant. En effet, les méthodes expérimentales et le type de solvant utilisé constituant aussi un facteur très important pour déterminer la bioactivité des algues (Zheng *et al.* 2001 ; Hellio *et al.* 2004 ; Manilal *et al.* 2009). En plus des facteurs environnementaux et des procédés d'extraction, un autre paramètre qui peut expliquer l'absence de l'activité antifongique, il s'agit des méthodes de séchage et de préparation des poudres d'algue qui peuvent influencer la composition des extraits en composés bioactifs (Le Lann, 2014). D'après Hornsey et Hide, (1985), la variation de l'activité des extraits d'algues peut être due aux paramètres écologiques induits par les facteurs climatiques, la température, la salinité, la lumière, l'oxygène dissous et les sels nutritifs, ou liée à la biologie et la physiologie de l'algue elle-même.

2. Teneur en composés phénoliques

Les résultats de la teneur en composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) des trois extraits d'algue étudiés sont obtenus à l'aide d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations en acide gallique (polyphénols) ou quercétine (flavonoïdes) (Annexe III). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique ou quercétine par gramme d'algue (mg EAG/g d'algue).

Figure 12: Teneur en composés phénoliques des extraits d'algue. **EAA** : Extrait Aqueux Autoclavé ; **EAF** : Extrait Aqueux à Froid ; **EAA** : Extrait Ethanoliques : Non significative ($p \geq 0,05$) ; ** : $p \leq 0,01$; *** : $p \leq 0,005$, **** : $p \leq 0,001$

A la lumière des résultats des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes rapportées dans la figure 12, il ressort que l'algue *Cystoseira* sp. est riche en polyphénols et en flavonoïdes. Les valeurs des concentrations des flavonoïdes dans les trois extraits sont inférieures à celles des polyphénols (Flavonoïdes : 0.7mg, 1.61mg, 3.51mg ; Polyphénols : 0.97mg, 4.91mg,

8.3mg) dans les extraits EAA, EAF, EE, respectivement. Cela est expliqué par le fait que les flavonoïdes appartiennent à la classe des composés phénoliques et de ce fait leur concentration dans les extraits doit être inférieure à celles des polyphénols.

Les résultats obtenus révèlent la présence de concentrations considérables de composés phénoliques. La teneur la plus élevée en polyphénols est obtenue avec l'extrait éthanolique (8mg EAG/g d'algue) suivi de l'extrait aqueux à froid (4.94mg EAG/g d'algue). Une quantité très faible est détectée dans l'extrait aqueux autoclavé (0.97mg EAG/g d'algue). De même pour les flavonoïdes, l'extrait éthanolique s'est avéré le plus riche (3.51mgEQ/g d'algue) comparé aux extraits aqueux à froid (1.61mg EQ/g d'algue) et aqueux autoclavé (0.7mgEQ/g d'algue).

Par ailleurs, plusieurs études ont démontré que les algues, comme les plantes, contiennent d'importante quantité de composés phénoliques (Meenakshi et Gnanambigai, 2009; Sava et Sirbu, 2010 ; Zeng et al. 2001). Cependant, pour les flavonoïdes, et d'après la littérature, il existe peu de travaux sur le contenu en flavonoïdes dans les algues marines (Meenakshi et Gnanambigai, 2009 ; Sava et Sirbu, 2010 ; Zeng et al. 2001).

Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes dans les algues marines varient pour plusieurs raisons: l'espèce, la saison et d'autres conditions géographiques, la méthode et le temps d'extraction, la solubilité et le type du solvant utilisé (Stirk et al. 2007 ; Sarojini et al. 2012), ce qui explique parfaitement la différence observée dans cette étude.

Une étude similaire à cette présente étude, réalisée par (Farvin et Jacobsen, 2013), a montré que l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* contient 2.26 ± 0.07 mg EAG/g de polyphénols et ils ont aussi rapporté que les extraits éthanoliques de deux autres algues brunes du genre *Fucus* ; *Fucus Senatus* et *fucus vesiculosus* présentent des teneurs remarquables en polyphénols totaux (12.09 mg EAG/g et 10.45 mg EAG/g) respectivement. Au regard de ces données, l'extrait éthanolique de l'algue *Cystoseira* sp. Peut être considérée comme riches en polyphénols. Khady, (2010) a rapporté que le contenu en polyphénols totaux dans les extraits d'algue *Gelidium sesquipedalea* été estimé à $8,71 \text{ mg} \pm 6,1 \text{ EAG / g}$ de broyat, ce qui montre que *Gelidium sesquipedale* renferme une teneur importante en composés phénoliques.

Chez les algues brunes marines, il existe une catégorie spécifique de polyphénols appelés phlorotanins, qui peuvent constituer jusqu'à 15% du poids sec des algues brunes

(Ragan et Glombitza, 1986; Targettet Arnold, 1998 ; Waterman et Mole, 1994). Une autre classe de composés phénoliques : les tannins ont largement été étudiés, (Mc Leod, 1974; Mueller-Harvey et McAllan, 1992). Contrairement à cela, les phlorotanins des algues marines ont rarement été étudiées par les scientifiques, néanmoins, des fonctions multiples ont été élucidées, à savoir, des actions antimicrobiennes (Targett et Arnold, 1998; Horikawa et al.1999 ; Nagayama et al. 2002), des activités antioxydantes (Nakamura et al. 1996; Pavia et Brock, 2000; Hwang et al. 2006).

A l'issue de ces résultats de la caractérisation quantitative préliminaire, l'extrait d'algue, à travers ces constituants en polyphénols constitue une source prometteuse en composés bioactives bénéfiques à la santé humaine.

3. Activité anti-oxydante

Les processus oxydatifs sont multiples et la nature de l'activité antioxydante peut être multiforme et attribuée à différents mécanismes tels que le piégeage des radicaux libres, la chélation des ions métalliques de transition, la prévention de l'initiation d'une chaîne de réactions productrice des Espèces réactives oxygénées et la décomposition des peroxydes (Ozen, 2009). Ainsi, la combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (Ksouri et al. 2009).

L'activité anti-oxydante des extraits d'algue *Cystoseira* sp. est évaluée par deux tests in vitro, le DPPH• et le pouvoir réducteur.

3.1.Effet de piégeage du radical DPPH•

Le test de DPPH est l'un des tests les plus utilisés pour déterminer l'activité anti-radicalaire des extraits de plantes (Laguerre et al. 2007). La figure 13 ci-dessous présente les pourcentages de réduction du radical DPPH• par les trois extraits testés.

Figure 13 : Les pourcentages de réduction du radical DPPH par les extraits d'algue

EAA : Extrait Aqueux Autoclavé ; **EAF :** Extrait Aqueux à Froid ; **EAA :** Extrait Ethanolique

ns : pas de différence significative

Les résultats d'évaluation du potentiel anti-radicalaire des trois extraits d'algue révèlent leur capacité remarquable à piéger les radicaux libres. L'analyse statistique de ces

résultats n'a montré aucune différence significative entre les trois extraits. L'activité maximale du piégeage des radicaux DPPH est d'environ 98,16 % et elle correspond aux extraits d'algues aqueux autoclavés. Les extraits aqueux à froid et éthanolique ont réduit 93,94% et 83,26% du radical DPPH, respectivement.

3.2. Test de potentiel réducteur

Le potentiel antioxydant résulte généralement de la présence des molécules capables de donner un électron. Le pouvoir réducteur des extraits de *Cystoseira* sp. en particulier leur capacité à transformer le complexe Fe^{3+} /ferricyanure à la forme de fer est testée.

La figure ci-après montre la capacité réductrice des trois extraits d'algues *Cystoseira* sp.

Figure 14 : La capacité réductrice des trois extraits d'algues *Cystoseira* sp.

EAA : Extrait Aqueux Autoclavé ; **EAF :** Extrait Aqueux à Froid ; **EE :** Extrait Ethanolique
ns : pas de différence significative ; *** : $p \leq 0.005$

Le pouvoir réducteur est la capacité d'une substance à transférer un électron ou à libérer un atome d'hydrogène (Souza et al. 2008). Il a été utilisé comme un test important pour mesurer l'activité anti-oxydante des plantes. Le résultat obtenu montre clairement que l'extrait aqueux à froid exhibe la meilleure activité (1,28 mg/g) par rapport aux extraits éthanoliques (0,26 mg/g) et aqueux autoclavés (0,48 mg/g).

La variabilité des résultats obtenus avec le test DPPH et le potentiel réducteur peut-être dû aux différences de polarité des solvants et des composés bioactifs contenu, dans l'algue, ce qui peut influencer la solubilité et le pouvoir réducteur de ces derniers (Turkman et al. 2006 ; Jayaprakasha et Patirol, 2007). Plusieurs molécules bioactives ont été isolées et identifiées à partir des algues marines (Aneiros et al. 2004), dont la plupart contiennent des composés phénoliques tels que les catéchines et les flavonoïdes (Yoshie-Stark, 2003), les phlorotannins, les tocophérols (vitamines E), et l'acide ascorbique (Vitamine C) connus pour leur activité anti-oxydante (Ragubeer, 2010).

Khady, (2010) a rapporté la capacité de l'extrait d'algue *Gelidium sesquipedale* à réduire le radical DPPH et que l'analyse de la réaction entre l'extrait de la même algue et la solution du DPPH montre un pic caractéristique de la forme réduite du réactif (DPPH-H) obtenu à un temps de rétention de 6,45 min. Mezghani, (2013), a également exhibé le pouvoir antioxydant de l'extrait d'algue *Ulvaria* et sa capacité à piéger les radicaux DPPH.

L'activité anti-oxydante des extraits d'algues obtenus dans cette étude sont probablement dus aux polyphénols contenus dans les extraits. Il a été démontré que les molécules anti-oxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (Bougandoura et Bendimerad, 2012). D'après les mêmes auteurs, le pouvoir réducteur des extraits de plantes sont dus à la présence du groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron et par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants.

Récemment, plusieurs composés d'algues, y compris les polyphénols, les polysaccharides et les protéines, ont été présentés comme des antioxydants puissants qui protègent les cellules contre les radicaux libres et retardent la progression de nombreuses maladies chroniques (Yildiz G, 2012).

Partie III : Effet des extraits d'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin

La salinisation des sols et des eaux, est l'un des principaux facteurs abiotiques qui limitent la productivité végétale (Al-karaki, 2000; Baatour et al. 2004), et le rendement agricole (Zid et Grignon, 1991). Dans les écosystèmes arides et semi arides, elle résulte des fortes évaporations d'eau à partir du sol (Munns et al. 2006). Dans ce contexte, augmenter la résistance des plantes à ce stress, *via* l'apport d'extraits algaux, pourrait présenter un intérêt majeur pour maintenir ou augmenter la production agricole dans les régions arides et semi-arides

1. Effet de stress salin sur la germination des graines d'orge

Les valeurs de germination des graines d'orge sous stress salin, en présence et absence des extraits d'algue, ainsi que les valeurs de témoin, sont présentés dans le graphe suivant.

Figure 15: Pourcentage de germination des graines d'orge sous stress salin

D'après ces résultats, le NaCl affecte significativement la germination des graines. En absence et en présence du stress salin avec les extraits d'algue (Cys 50% et 100%), la cinétique de germination des graines est similaire à celle du témoin. Ces résultats révèlent clairement l'effet agressif du stress salin ainsi que la capacité remarquable de notre extrait à restaurer la germination des graines affecté par ce stress.

2. Effet de stress saline sur la croissance d'orge

Les résultats des valeurs de paramètre tige de l'orge cultivé sous stress salin (350mM NaCl) en présence et en absence de l'extrait *Cystoseira* sp. (50% et 100%) sont présentés dans les graphes suivants :

Figure 16 : Effet du stress salin sur la croissance de l'orge (paramètre tige)

* : $p \leq 0.05$; ** : $p \leq 0.01$; *** : $p \leq 0.005$; ns : non significatif $p > 0.05$

La présence de sel dans les solutions d'irrigation a considérablement affecté la longueur des plantules d'orge comparée au témoin ($p \leq 0.01$) et au extrait Cys 50% et Cys *100%. L'irrigation avec l'extrait et le sel (Cys 50%+ 350mM et Cys 100%+ 350 Mm) ne semble pas stimuler significativement le paramètre mesuré. Sous stress salin, le traitement des

plantules avec l'extrait Cys 50%, à restauré légèrement la croissance des tiges (longueur, poids frais et poids sec).

Selon Neumann, (1995), le degré de sensibilité au stress salin dépend du stage végétatif au cours duquel la plante subit le stress. Chez certaines espèces, c'est le stage juvénile qui est le plus sensible, alors que chez d'autres espèces, c'est le stade adulte qui est le plus sensible. Ainsi par exemple l'orge, le blé, le sorgho, la betterave et le tournesol se montrent plus sensibles au stade juvénile qu'au stade plante adulte (Greenway, 1980 ; Munns et al. 2006).

Singh et al. (2012) ont constaté que le taux et la vitesse de germination des graines de tomate diminuent avec l'augmentation du stress salin. Ils ont également démontré que le rapport poids sec (racines/tiges) des plantules et le contenu en Na⁺ augmentent, tandis que la concentration en K⁺ diminue. Selon Nedzarek et Rakusa-Suszczewski (2004) l'algue constitue une source d'éléments nutritifs pour la graine et elle retient l'eau dans son environnement extérieur ce qui réduit le taux de déshydratation. La germination est inhibée par le stress salin, ce phénomène d'inhibition de la germination est lié à la déshydratation de l'embryon à l'intérieur de la graine (Fogle et Munns, 1973).

Zhu et al. (2004) mentionnent que la salinité affecte négativement la longueur de la coléoptile et le développement du système racinaire ce qui a pour effet de retarder la germination et la levée des plantules. Selon Bakht et al. (2011) les concentrations élevées de salinité réduisent la hauteur des plantules de maïs (*Zeamays*). Amira et al. (2014), ont rapporté que les extraits d'algues peuvent diminuer complètement l'effet agressif du stress salin de faible concentration (320 ppm) et partiellement l'effet d'un stress de forte concentration (3200 et 4800 ppm).

Comparativement à des plantes témoin stressées, les traitements par des extraits d'algues a permis une meilleure production de biomasse chez les plantes cultivées en situation de stress salin. Cependant, il est à noter que la biomasse des plantes stressées et traitées par les extraits reste toujours significativement inférieure à celles de plantes nonstressées. Ces résultats suggèrent que la présence de l'extrait, bien que bénéfique, ne permet pas une protection totale contre le stress salin (Jannin, 2012).

La capacité de nos extraits à restaurer la germination et la croissance de l'orge est peut être expliqué par le fait que les extraits d'algues sont riches en composés osmoprotecteurs, particulièrement les molécules des acides aminés libres (Nabti et al. 2007, Egamberdieva, 2009 ; Liu et al. 2013 ; El-Mostafa et al. 2014). D'après Ghoul et al. (1995) la restauration de la croissance végétale du blé en présence de stress salin est dû aux solutés compatibles

contenus dans l'algue (diverses bétaines, proline, acides aminés et DMSP). Ces composés réduisent l'effet du stress salin sur les plantes d'une part, et fournissent une source d'azote et d'énergie à la plante, d'autre part.

Les auteurs attribuent cette protection contre les stress aux composés protecteurs présents dans les extraits algaux comme les bétaines, les oligosaccharides ou les composés lipophiles. Cependant, les composés lipophiles, qui représentent 40% de la composition de l'extrait dans le cas de l'étude de Rayirath et al. (2009)

2. Effet de l'extrait *Cystoseira* sp. et le stress salin sur la teneur de l'orge en chlorophylle

Le NaCl affecte la photosynthèse réduisant ainsi la croissance et la production végétale. La fluorescence chlorophyllienne constitue l'un des paramètres importants dans l'halotolérance des plantes (Denden et al. 2005).

Dans la présente étude, le dosage de la chlorophylle est effectué afin de vérifier l'effet de l'extrait d'algue et le stress salin sur la teneur de l'orge en chlorophylle. Le graphe ci-dessous représente les valeurs de la chlorophylle a, b et totale obtenues chez l'orge traité par différentes concentrations d'extrait de *Cystoseira* sp.

Figure 17 :teneurs en chlorophylles a, b et totale de l'orge cultivé en présence des différentes concentrations d'extrait de *Cystoseira* sp.et le stress salin.

* : ($p < 0.05$) ; ** : ($p < 0.001$) ; *** ($p < 0.0005$) ; **** ($p < 0.0001$) ; ns : non significatif ($p \geq 0,05$).

Sous stress salin, les deux concentrations d'algue 50% et 100% améliore significativement la teneur des plantules d'orge en chlorophylles a, b et totale. En absence de stress les extraits d'algue ne semblent pas avoir un effet sur la teneur en chlorophylles.

La salinité réduit le contenu chlorophyllien, cette réduction est dépendante de l'intensité du stress et du degré de tolérance de la plante (Ashraf et McNeilly, 1988 ., Zhao et al.(2007) . Selon Velegaleti et al. (1990), la réduction de la chlorophylle est corrélée avec l'accumulation du Cl⁻ dans les tissus. De plus la salinité impose à la plante une réduction de l'absorption des ions essentiels tels que le K⁺ et Ca²⁺, conduisant à un déséquilibre ionique (Zhu, 2001). Ca²⁺ est nécessaire pour le maintien de la sélectivité et l'intégrité de la membrane cellulaire, d'où un déficit en Ca²⁺ affecte la sélectivité de la cellule et l'intégrité de la membrane, accélérant le passage passif des ions Na⁺ et leur accumulation dans les tissus (Cramer, 2002).

Les effets délétères du NaCl sur la sénescence des feuilles sont liés à l'accumulation des ions toxiques (sodium et chlore) et à la diminution de l'absorption des ions Mg^{+2} affectant ainsi le contenu en chlorophylle (Leidi et al. 1991). Amira et al. (2014) Chez les témoins, l'allure jaunâtre des plantes pourrait être due au stress salin. Ce dernier exerce un effet néfaste sur la teneur en chlorophylle comme a été démontré chez plusieurs cultures (Parida et Das, 2005) et chez les aubergines (Kaya et al. 2002).

L'augmentation de la teneur en chlorophylle obtenu dans notre étude confirme les rapports de Bozorgi, (2012) et Ramarajan et al. (2013) qui mentionnent que l'application d'algues sur la plante d'haricot sous forme de pulvérisation foliaire ou incorporé dans le milieu de culture augmente la pigmentation des feuilles et les tiges (notamment Chl a). Aussi, l'application d'extrait d'algues sur l'aubergine augmente significativement la teneur en chlorophylle à deux niveaux de stress salin (3200 et 4800 ppm). Cependant, les plantes stressées présentent des teneurs en chlorophylles significativement supérieures aux plantes non stressées. Cette constatation est en accord avec la littérature. De nombreux auteurs ont déjà montré des augmentations de teneurs en chlorophylles en réponse à un stress, notamment les stress induits par la présence de métaux lourds comme le cadmium ou le zinc dans le milieu de culture (Singh et al. 2006 ; Jiang et al .2007 ; Jia et al. 2010 ; Najeeb et al. 2011).

3. Evaluation des paramètres du stress salin en présence et absence de l'extrait de *Cystoseira* sp.

- **La teneur en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)**

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est une forme active de l'oxygène qui n'est pas très réactive, et la cellule peut en supporter des concentrations relativement importantes.

Les résultats de l'évaluation du H_2O_2 dans les plantes d'orge cultivées sous stress salin et traité ou non avec les extraits d'algue sont présentés dans la figure 18.

Figure 18 : Effet de l'extrait de *Cystoseira* sp. sur la teneur en H_2O_2 des plantules d'orge en présence et en absence de stress salin

* : ($p < 0.05$) ; **** ($p < 0.0001$)

D'après ces résultats, le stress salin a augmenté de manière très significative le niveau de peroxyde d'hydrogène. En comparaison avec le témoin stressé, les traitements avec les

extraits Cyst 50% et 100% on réduit significativement le taux de H₂O₂ (p<0.0001). En outre, l'extrait a inhibé considérablement l'effet délétère de stress salin (350Mm).

- **Intégrité membranaire**

La fuite d'électrolytes est estimée par l'augmentation de la conductivité électrique du milieu externe par rapport au témoin. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 19.

Figure 19 : Effet de l'extrait de *Cystoseira* sp. sur l'intégrité membranaire des plantules d'orge en présence et en absence du stress salin
* : (p<0.05) ; ** (p<0.01)

La figure ci-dessus montre l'ampleur de la fuite des électrolytes chez les plantules stressées. Ce résultat est synonyme d'une altération de l'intégrité membranaire. On peut déduire que les extraits d'algue Cyst 50% et Cysto 100% testés exercent une action remarquable sur la fuite des électrolytes et par conséquent sur l'intégrité membranaire des tissus des plantules d'orge. Comparés au témoin, les deux extraits ont donné presque les mêmes résultats, ce qui signifie que ces extraits ont réduit considérablement l'effet délétère de NaCl sur l'orge.

- **Peroxydation des lipides**

La peroxydation lipidique résulte d'une réaction d'oxydation entre des chaînes latérales d'acides gras insaturés de lipides et le radical hydroxyle. En effet, ce radical est capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former le radical peroxy. Ce dernier peut alors évoluer après plusieurs réactions d'oxydation et donner lieu à des aldéhydes toxiques dont le malonalaldéhyde (MDA). Ce dernier est évalué dans notre étude afin de nous renseigner sur la capacité de l'extrait *Cystoseira* sp. à réduire le taux de la peroxydation lipidique des membranes cellulaires de l'orge. Les résultats obtenus sont illustrés dans le figure 20.

Figure 20 : Effet de l'extrait de *Cystoseira* sp. sur la peroxydation lipidique des membranes cellulaires de l'orge
* : (p<0.05) ; ns : non significatif (p≥0,05).

L'analyse statistique des résultats a révélé une réduction significative ($p < 0.05$) du taux de MDA par l'extrait d'algue Cys 50%, quant à l'extrait Cys 100%, son action sur la réduction de MDA n'est pas significative ($p \geq 0.05$).

Sous stress abiotique tel que la salinité, la plante peut souffrir de dommages membranaires dus à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprenant le radical superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle (OH^\cdot) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ces radicaux causent des dommages oxydatifs aux biomolécules tels que les lipides et les protéines et conduit finalement à la mort cellulaire (Del Rio et al. 2003). La perturbation de l'état redox cellulaire est ajustée par l'activation du système antioxydant dans la plante (Gill et Tuteja, 2010 ; Jha et Subramanian, 2013), par la production d'enzymes antioxydantes (superoxydedismutase (SOD), peroxydase (POX), catalase (CAT)) ou des antioxydants non enzymatiques tels que l'ascorbate, le glutathion et l' α -tocophérol (Del Rio et al. 2003). De nombreux rapports ont récemment rapporté la capacité des algues à activer la machinerie cellulaire d'antioxydants chez les plantes sous stress.

L'évaluation de ces trois paramètres (H_2O_2 , intégrité membranaire et la peroxydation lipidique) révèle clairement la capacité de notre extrait à atténuer l'agressivité de la salinité sur les plantules de l'orge.

L'évaluation du taux de peroxyde d'hydrogène est une étape primordiale dans les plantes sous stress, étant donné qu'il est le principal générateur des dérivés réactifs de l'oxygène responsables du stress oxydatif. Plusieurs études ont démontré que l'effet des différents stress abiotiques génère les espèces réactives de l'oxygène.

Saidani et al. (2011) ont décrit que la mesure de l'activité scavenger du H_2O_2 par les extraits de l'algue rouge *Rhodomelaconfervoides* inhibe considérablement le peroxyde d'hydrogène, avec des pourcentages d'inhibition de $97,76 \pm 0,170\%$ et de $88,69 \pm 0,03\%$, à des concentrations de 1 et 0,5 mg/ml, respectivement. George et al. (2003) ont révélé que les algues ont la capacité de décomposer le peroxyde d'hydrogène et que leur habilité à décomposer ce radical est affectée par les modifications physiques et chimiques de l'environnement et un accroissement de la salinité et de la température.

Par leur composition riche en phytohormones, polysaccharides, éléments nutritifs et vitamines, les algues peuvent protéger et améliorer la croissance des plantes dans des environnements normaux et stressants. De plus, ils constituent une source majeure de solutés

compatibles pour les plantes et les bactéries dans les conditions du stress. Ghoul et al. (1995) ont rapporté que l'extrait d'algues contient une grande quantité de solutés compatibles comme les bêtaïnes, les acides aminés et le 3-dimethylsulfoniopropionate (DMSP).

Conclusion

L'application des extraits d'algue afin de stimuler la croissance des plantes dans des conditions normales ou du stress est l'une des alternatives prometteuses visant à améliorer le développement et la qualité des cultures.

Cette présente investigation a permis d'en apprendre d'avantage sur les algues et leurs capacité à stimuler la croissance des cultures dans des conditions normales et de stress.

L'utilisation de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. comme biostimulant, a montré un effet variable sur les différents paramètres de la croissance des petits pois, cet effet dépend de la dilution utilisée (50% et 100%) et du type du traitement.

Concernant les résultats basés sur l'inhibition de la croissance mycélienne, les extraits éthanoliques se sont révélés les plus actifs des extraits testés. L'activité est obtenue sur toutes les espèces fongiques.

Le dosage des composés phénoliques a montré la richesse des extraits préparés en polyphénols et flavonoïdes, de même les activités anti-oxydantes liées à ces composés est remarquable dans les trois extraits (éthanolique, aqueux autoclavé et aqueux à froid).

Le stress abiotique exercé par la concentration 350mM du NaCl a affecté significativement la croissance de tous les paramètres de l'orge. L'ajout des extraits d'algue a restauré légèrement la croissance des paramètres de croissance de la tige. Toutefois, l'effet sur la teneur en chlorophylle est très significatif où les deux extraits ont amélioré la teneur en chlorophylle a, b et totale.

A tous ces critères s'ajoute l'aptitude de ces extraits à atténuer l'effet délétère de la salinité en réduisant significativement la fuite des électrolytes dans les membranes cellulaires, la peroxydation des lipides et la génération des radicaux libres (peroxyde d'hydrogène).

Les résultats de cette étude encouragent le passage vers une culture «Bio-agriculture» saine et bénéfique à la santé humaine et à l'économie nationale. L'exploitation des extraits d'algue comme biostimulants et agent de biocontrôle s'impose comme alternative prometteuse aux produits chimiques (fertilisants et pesticides) tant nuisibles pour l'environnement que pour la santé publique.

A l'issue de ce travail, nous émettons quelques réflexions et recommandations sous forme de perspectives pour une meilleure exploitation de cette algue :

- Optimiser les conditions d'extraction des différentes molécules bioactives des algues, afin d'améliorer leur potentialité à promouvoir la croissance et la santé des plantes ;
- Réaliser des tests d'antagonisme *in vivo*;
- Extraction, identification et détermination du mode d'action des molécules impliquées dans la lutte biologique et la promotion de la croissance des plantes.

Références Bibliographiques

Al-Karaki G. N. (2000). Growth, water use efficiency, and sodium and potassium acquisition by tomato cultivars grown under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 23: 1-8.

Al-Mansouri M., Kinet J. M. et S. Lutts. (1988). Compared effects of sudden and progressive impositions of salt stress in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *J. Plant Physiol.* 54: 743-753.

Amira H. Ghoname A. et Nafeh A. (2014). Alleviation of Salt Stress Adverse Effect and Enhancing Phenolic Anti-oxidant Content of Eggplant by Seaweed Extract March 2015, *Gesunde Pflanzen* 67 : 21-31

Aneiros A. et Garateix. A. (2004). Bioactive peptides from marine sources: pharmacological properties and isolation procedures. *Journal of Chromatography B*, 803, (15): 41-53.

Anisimov M.M., Chaikina E.L., Afiyatullof S.et Kuznetsova T.A. (2010). Influence of diterpene glycosides from a sea mushroom *Acremonium striatisporum* on growth of roots of corn sprouts (*Zea mays* L.), *Agrochemistry*. 5: 34-38.

Arif F. (2016). Effet du stress salin et d'osmoprotecteurs naturels sur la germination de blé dur (*Triticum durum*) inoculé par *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif 1. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sétif, Algérie. 156p.

Arnon D.T. (1949). Copper enzyme in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.

Ashraf M. et McNeilly. T. (1988). Variability in salt tolerance of nine spring wheat cultivars. *J. Agron. Crop. Sci*, 160: 14-21.

Ashraf M. et Foolad M.R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ. Experim. Bot.* 59: 206-216.

Ashraf M., Ahmad M. S. A., Öztürk M. et Aksoy A. (2012). Crop Improvement through Different Means: Challenges and Prospects. In: Ashraf, M. et al. (eds). *Crop Production for Agricultural Improvement*. Springer Science+Business Media B.V. Dordrecht, *The Netherlands*, pp 1-15.

Athar H. R. et Ashraf M. (2009). Strategies for Crop Improvement against Salinity and Drought Stress: An Overview. In: Ashraf, M. (ed). *Salinity and Water Stress*. Springer Science + Business Media B.V. Dordrecht, *The Netherlands*,pp 1-16.

Ayala-Astorga, G. I. et L. Alcaraz-Meléndez. (2010). Salinity effects on protein content, lipid peroxydation, pigments and proline in *Paulownia imperialis* (Siebols&zuccarini) and *Paulownia fortunei* (seemann & hemsley) grown in vitro. *Electron. J. Biotechnol.* 13 : 1-15.

Aziz A., Poinssot B., Daire X., Adrian M., Bezier A., Lambert B., Joubert J.M., Pugin A. (2003). Laminarin elicits defence responses in grapevine and induces protection against Botrytis.

Baatour O., M'rah S., Ben Brahim N., Boulesnem F.et Lachaal M. (2004). Réponse physiologique de la gesse (*Lathyrus sativus*) à la salinité du milieu. *Revue des Régions Arides, Tome 1, No. Spécial* : 346- 358.

Bakht J. M., Shafi Y.et Jamal H. She. (2011). Response of maize (*Zea mays* L.) to seed priming with NaCl and salinity stress. *Spanish Journal of Agricultural Research* .9: 252-261.

Banu Doganlar, Z., K. Demir., H. Basak., I. Gul. (2010). Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three tomato cultivars. *Afr. J. Agri. Res.* 05 (15): 2056-2065.

Battacharyya D., Babgohari M. Z., Rathor P. et Prithviraj B. (2015). Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci Hortic.* 196: 39-48.

Beaulieu L., Bondu S., Doiron K., Rioux, L.-E., & Turgeon S. L. (2015). Characterization of antibacterial activity from protein hydrolysates of the macroalga *Saccharina longicruris* and identification of peptides implied in bioactivity. *Journal of Functional Foods*, 17 : 685- 697.

Bensidhoum L., Nabti E., Tabli N., Kupferschmied P., Weiss A., Rothballer M., Schmid M., Keel C. et Hartmann A. (2016). Heavy metal tolerant *Pseudomonas protegens* isolates from agricultural well water in northeastern Algeria with plant growth promoting, insecticidal and antifungal activities. *Eur J Soil Biol.* 75: 38-46.

Bensidhoum L., Tabli N., Nabti E. (2018). Effect of the marine algae *cystoseira mediterranea* on growth of *hordeum vulgare* (l.) and its chlorophyll content”, has been accepted for publication. *Trends in Horticulture*. In press, TH773.

Bougandoura N. et Bendimerad N. (2012). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. *Revue Nature & Technologie*. B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013 : 14-19.

Bozorgi H. (2012). Effects of foliar spraying with marine plant *Ascophyllum nodosum* extract and nano iron chelate fertilizer on fruit yield and several attributes of eggplant (*solanum melongena.*). *ARPNJ Agricul Biol Sci* .7:357–362.

Bradáčová K., W. N.-T. (2016). Micronutrients (Zn/Mn), seaweed extracts, and plant growth-promoting bacteria as cold-stress protectants in maize. *Chemical Biological Technologies in Agriculture*, 19.

- Brand-Williams., Cuvelier M.E., and Berset C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25–30.
- Briand X., Esquerré-Tugayé M.T. et Dumas B. (2004).** Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva* ssp. *Plant Cell and Environment* .27: 917-928.
- Chaib Ayadi N. (1997).** Activité antifongique *in vitro* et *in vivo* des extraits de l'algue brune *Cystoseira tamariscifolia* sur les champignons phytopathogènes: *Botrytis cinera*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Verticillium albo atrum* de *Lycopersicon esculentum* Mill. *Thèse de doctorat d'Etat Es Sciences Faculté des Sciences Ben M'sik Casablanca*, pp:188.
- Chopin T. (1997).** Marine biodiversity monitoring. Protocol for monitoring of seaweeds. Environment Canada, Ecological monitoring and Assessment Network. Ottawa, 40p.
- Chouikhi A. (2013).** Les applications potentielles des macroalgues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites : Revue. USTHB-FBS-4th International Congress of the Populations & Animal Communities —Dynamics & Biodiversity of the terrestrial & aquatic Ecosystems""CIPCA4"TAGHIT (Bechar) – Algeria.
- Chung I.K., Y.H. Kang C. Yarish G.P. Kraemer et J.A. Lee. (2002).** Application of seaweed cultivation to the bioremediation of nutrient-rich effluent. *Algae*, 17 : 187-194.
- Chung I.K., J.H. Oak., J.A. Lee., J.A. Shin., J.G. Kim ., K.-S. Park. (2013).** Installing kelp forests/seaweed beds for mitigation and adaptation against global warming: Korean Project Overview. *ICES Journal of Marine Science*, 70: 1038-1044.
- Cluzet S., Terregrosa C., Jacquet C., Lafitte C., Fournier J., Mercier L., Salamagne S., Jayaraj J., Wan A., Rahman M. et Punja Z.K. (2008).** Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Protection*. 27: 1360-1366.
- Craigie J.S. (2011).** Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23: 371–393.

Craigie J.S., Norrie J., Prithviraj B. (2009). Seaweed extract as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*. 28: 386-399.

Cramer G. R. (2002). Sodium-calcium interactions under salinity stress. In: *Salinity Environment-Plants-Molecules* (Läuchli, A. and Lüttge, U., eds.), Dordrecht, the Netherlands: *Kluwer Academic Publishers*, pp. 205–227.

Del Rio LA., L.M Sandalio ., DA Altomare .et BA Zilinskas .(2003). "Mitochondrial and peroxisomal manganese superoxide dismutase: differential expression during leaf senescence." *Journal of Experimental Botany* 54(384): 923-933.

Denden M., Bettaieb T., Salhi A., Mathlouthi M. (2005). Effet de la salinité sur la fluorescence chlorophyllienne, la teneur en proline et la production florale de trois espèces ornementales, *Tropicultura*, 23(4): 220 - 225.

Eannin I., L. J.-G. (1991). The effects of aqueous seaweed spray on the growth of maize. *Botanica Marina*, 469-473.

El Gamal A. A. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 18 : 1-25.

El-Kaoua., R. Serraj., M. Benichou .,D. Hsissou. (2006). Comparative sensitivity of two Moroccan wheat varieties to water stress : the relationship between fatty acids and proline accumulation. *Bot. Studies*. 47: 51-60.

El-Mostafa K., EL Kharrassi Y., Badreddine A., Andreolletti P., Vamecq J., El Kebbaj M. S., Latruffe N., Lizard G., Nasser B. et Malki M. C. (2014). Nopal Cactus (*Opuntia ficus-indica*) as a Source of Bioactive Compounds for Nutrition, Health and Disease. *Molecules*. 19: 14879-14901.

El-Tayeb, M. A. (2006). Differential responses of pigments, lipid per-oxidation, organic solutes, catalase and per-oxydase activity in the leaves of two *Vicia faba* L. cultivars to drought. *Int. j. Agri. Biol.* 08(1): 116-122.

Eyras M.C., Defosse G.E., Dellatorre F. (2008). Seaweed compost as an amendment for horticultural soils in Patagonia, Argentina. *Compos. Sci. Util.* 16, 119–124.

Ezghani S., Bourguiba I., Hfaiedh I et Amri M.(2013) .Antioxidant potential of *Ulva rigida* extracts: protection of HeLa cells against H₂O₂ cytotoxicity. *Biol Bull.* 2013;225:1–7.

Fan D. (2011). *Ascophyllum nodosum* extracts improve shelf life and nutritional quality of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Dissertation, Dalhousie University.

Flowers T. J. et T.D. Colmer. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytol.* 179: 945–963.

Fogle V. W. and D. N. Munns. (1973). Effect of salinity on the time course of wheat seedling growth. *Plant physiol.* 51:987-988.

Galal H.R.M., Salem W.M., Nasr El-Deen F. (2011).Biological Control of Some Pathogenic Fungi using Marine Algae Extracts. *Res. J. Microbiol.* DOI: 10.3923.

Garon-Lardiere S. (2004). Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.

Ghassemi F. A.J., Jakeman H.A. Nix. (1995). Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies. Center for resource and environmental studies. The Australian National University, Canberra, Australia, 125p.

Ghoul M. (1990). Halotolerance d'*Escherichia coli*, Effet des osmoprotecteurs naturels. Thèse de doctorat, université de Rennes I, U.F.R. de PHARMACIE. Soutenue publiquement le : 2 juillet 1990.

Ghoul M., Minet J., Bernard T., Dupray E. et Cormier M. (1995). Marine Macroalgae as a Source for Osmoprotection for *Escherichia coli*. *Microb. Ecol.* 30: 171-181.

Gill S.S.et Tuteja N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 909–930.

Greenway H., Munns R. (1980). Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*. 31: 149 – 190.

Grieve, C. M. and M. C. Shannon.(1999). Ion accumulation and distribution in shoot components of salt-stress eucalyptus clones. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 124:559-563.

Hamed I., Özogul F., Özogul Y.et Regenstein J. M. (2015). Marine bioactive compounds and their health benefits: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4): 446-465.

Hanana M., Bejia A., Amri I., Gargouri S. Jamoussi B., Hamrouni L. (2014). Activités biologiques des huiles essentielles de pins. *Journal of New Sciences*. 4 : 18-32.

Harnedy P. A. et Fitzgerald R. J. (2011). Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *Journal of Phycology*, 47(2), 218-232.

Hiscox J.D. et Tsraelstam G.F. (1979). A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* 57: 1332-1334.

Horikawa M., Noro T.et Kamei Y. (1999). In vitro antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activity found in extracts of marine algae indigenous to the coastline of Japan. *J. Antibiot.* 52 : 186–189.

Hornsey I.S.et Hide D. (1985). The production of antimicrobial compounds by British marine algae IV. Variation of antimicrobial activity with algal generation. *Brit Phycol J.* 20: 21-25.

Hwang H., Chen T., Nines R.G., Shin H.C.et Stoner G.D. (2006). Photochemo prevention of UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by brown algae polyphenols. *Int. J. Cancer* 119 : 2742–2749.

Jannin L. (2012). Caractérisation des modifications physiologiques et métaboliques induites chez *Brassic napus* L. par l'apport d'extraits algaux ou d'acides humiques. Thèse de doctorat en physiologie, biologie des organismes, populations, interactions. Université de Caen Basse- Normandie. Ecole Doctorale Normande Biologie Intégrative, *Santé et Environnement*. Caen, France. 136p.

Jayaprakasha G.K. and Patil B.S. (2007). In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry* 101: 410-418.

Jha Y., Subramanian RB. (2013). Paddy plants inoculated with PGPR show better growth physiology and nutrient content under saline conditions. *Chil J Agric Res*, 73:213-219 .

Jia Y., Tang S., Wang R., Ju X., Ding Y., Tu S., Smith DL. (2010). Effects of elevated CO₂ on growth, photosynthesis, elemental composition, antioxidant level, and phytochelatin concentration in *Lolium mutiforum* and *Lolium perenne* under Cd stress. *Journal of Hazardous Material* .180: 384-394.

Jiang HM., Yang JC., Zhang JF. (2007). Effects of external phosphorus on the cell ultrastructure and the chlorophyll content of maize under cadmium and zinc stress. *Environmental pollution* 147: 750-756.

Julie P., Danielle L. et Daniel M., (2010). Algues, filières du futur Livre Turquoise. Adebioihech, p163.

Julien Louvieux. (2004). Mesure de l'efficacité d'extraits d'algues sur la vigne (*Vitis vinifera* L.), en conditions contrôlées et au vignoble, validée par la mesure de l'activité photosynthétique et les analyses chimiques. Thèse de doctorat en Laboratoire d'Agrotechnologies Végétales - ulb université libre de bruxelles. École Interfacultaire de Bioingénieurs.

Kang Ki Joo., Byung-Hoon Min., Jun Haeng Lee., Eun Ran Kim., Chang Ohk Sung.,Joo Young Cho., Soo Won Seo., et Jae J Kim (2013). « Alginate Hydrogel as a Potential Alternative to Hyaluronic Acid as Submucosal Injection Material ». *Digestive Diseases and Sciences* 58 (6): 1491.

Karima K. (2007). Identification et étude moléculaire des bactéries et des archéobactéries aérobies halophiles de la sebkha Ezzemoul (Ain M'Lila). Thèse de doctorat, Université Mentouri–Constantine.

Kaya C., Higgs D., Saltali K., Gezeral O. (2002). Response of strawberry grown at high salinity and alkalinity to supplementary potassium. *J Plant Nutr.* 25:1415.

Kerbab S. Les actinomycètes d'un sol salé:rôle des osmoprotecteurs naturels. memoire de magistere en sciences biologiques. Université de setif,algerie , 133p.

Khady B., Tine E., Destain J., Cissé N.et Thonart. P. (2010). Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14(1): 131-139.

Khallil A.M., Daghman I.M., Fady A.A. (2015). Antifungal Potential in Crude Extracts of Five Selected Brown Seaweeds Collected from the Western Libya Coast. *J Micro Creat* 1: 103.

Khan W., Rayirath U.P., Subramanian S., Jithesh M.N., Rayorath P., Hodges D.M., Critchley A.T., Craigie J.S., Norrie J. et Prithviraj B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28: 386–399.

Kim,D.H.(1970). Economically important seaweeds in Chile-I/Gracilaia. *Bot.Mar.*13:140-162.

Kosová K., Vítámvás P., Prášil I. T. Renaut J. (2011). Plant proteome changes under abiotic stress-Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *J. Prot.* 7 4: 1301-1322.

Ksouri R., Falleh H., Megdiche W., Trabelsi N., Mhamdi B., Chaieb K., Bakrouf A., Magné C ., Abdelly C .(2009). Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical Toxicology*: 47:2083-2091.

Kumar G., Sahoo D. (2011). Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *J. Appl. Phycol.* 23: 251 – 255.

Kumari R., Kaur I., Bhatnagar A. K. (2011). Effect of aqueous extract of *Sargassum johnstonii* Setchell & Gardner on growth, yield and quality of *Lycopersicon esculentum* Mill. *J. Appl. Phycol.* 23: 623-633.

Laguerre, M., López-Giraldo, L.J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante, *Fondamental, O*, Vol.14 (5) : 278-292.

Lavelle P.et Spain A. V. (2001). *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 654p

Le Lann K. (2014). Etude de la biodiversité des Sargassaceae (Fuciales, Phaeophyceae) en milieux tempéré et tropical : écologie, chimiotaxonomie et source de composés bioactifs. Thèse de Doctorat de Biologie Marine. Université de Bretagne Occidentale, Ecole Doctorale des Sciences de la Mer, Bretagne, 367p.

Leidi E.O., Silberbush M. and Lips S.H. (1991). Wheat growth as affected by nitrogen type, pH and salinity. I. Biomass production and mineral composition. *J. Plant Nutr.* 14: 235-246.

- Leidi E. O., Nogales R. et S. H. Lips .(1991).** Effect of salinity on cotton plants grown under nitrate or ammonium nutrition at different calcium levels. *Fields Crops Research*. 26: 35-44.
- Liu Y., Shi Z., Yao L., Yue H., Li H. et Li C. (2013).** Effect of IAA produced by *Klebsiella oxytoca* Rs-5 on cotton growth under salt stress. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 59: 59-65.
- Lloyd CW. (1989) .***The plant cytoskeleton. Curr Opin Cell Biol* 1:30–35
- MA, Glombitza K-W. (1986) .**Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Phycological Research* 4:129-241.
- Mac Artain P., Gill C.I.R., Brooks M., Campbell R. et Rowland I.R., 2007.** Nutritional Value of Edible Seaweeds. 535–543.
- Mahdi S.S., Hassan G.I., Samoon S.A., Rather H.A., Dar Showkat A. et Zehra B. (2010).** *Bio-fertilizer in organic agriculture. Journal of Phytology.*2(10): 42-54.
- Mäkelä P., Kontturi M., Pehu E. et Somersalo S. (1999).** Photosynthetic response of drought- and salt-stressed tomato and turnip rape plants to foliar-applied glycinebetaine. *Physiologia Plantarum*, 105 : 45 50.
- Mancuso S., Azzarello E., Mugnai S. et Briand X. (2006).** Marine bioactive substance (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. *Advances in Horticultural Science.* 20: 156-161.
- Manilal A., Sujith ., Seghal Kiran G., Selvin J., Shakir C, Gandhimathi R. ., Lipton A. P.(2009).** Antimicrobial potential and seasonality of red algae collected from the southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. *Annals of Microbiology*, 59(2): 207-219.

Martinez-Beltran J. et Maiizur CL. (2005). Overview of salinity problems hi the world and FAO strategies to address the problem. Proceedings of the international salinity forum. Riverside. California. April. 311- 313p.

Matysiak K., Kaczmarek S., Kierzek R., Kardasz P.(2010). Ocena działania ekstraktów z alg morskich oraz mieszaniny kwasów huminowych i fulwowych na kiełkowanie i początkowy wzrost rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.), *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 55(4) : 28–32

Mc Leod M.N. (1974). Plant tannins—their role in forage quality. *Nutr. Abs. Rev.* 44 : 803 -814.

Mcneil S., Nuccio M. et Hanson A. (1999) . Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiology*, 120 : 945-949.

Meenakshi S., Gnanambigai D.M. (2009). *Global Journal of Pharmacology.* (3) 59-63.

Mercier L., Lafitte C., Borderies G., Briand X., Esquerré-Tugayé M.T.et Fournier J. (2001) .The algal polysaccharide carrageenans can act as elicitor of plant defense. *New Phytologist* .149: 43-51.

Moreau J., Pesando D., Caram B. (1984). Antifungal and antimicrobial screening of Dictyotales from the French Mediterranean Coast. *Hydrobiol.* 1984, 116/117: 521-524.

Moujahid A., Bencharki B.L., Hilali A., Bagr L., Najim L. (2004). Activités antibactérienne et antifongique des extraits d’algues marines d’origine marocaine, biologie et santé. 4(2). 299.

Mueller-Harvey I. et McAllan A.B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Adv. Plant Cell Biochem. Biotechnol.* 1 : 151–217.

Munns R., James R A., Lauchli R. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany.* Vol. 57, N°. 5:1025-1043.

Nabti E. (2007). Restauration de la croissance de *Azospirillum brasilense* et de Blé dur et leur osmoprotection par *Ulva lactuca* en Milieux Salés. Thèse de Doctorat en Science Biologique. Université Abderrahmane Mira, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Bejaia. 147p.

Nabti, E., Sahnoune, M., Adjrad, S., Dommelen, A. V., Ghoul, M., Schmid, M. et Hartman, A. (2007). A Halophilic and Osmotolerant *Azospirillum brasilense* Strain from Algerian Soil Restores Wheat Growth under Saline Conditions. *Eng. Life Sci.* 7(4): 354-360.

Nagayama K., Iwamura Y., Shibata T., Hirayama I. et Nakamura T. (2002). Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *J. Antimicrob. Chemother.* 50 : 889–893.

Najeeb U., Jilani G., Ali S., Sarwar M., Xu L., Zhou W. (2011) .Insights into cadmium induced physiological and ultra-structural disorders in *Juncus effusus* L. and its remediation through exogenous citric acid. *Journal of Hazardous Materials* 186: 565-574.

Nakamura T., Nagayama K., Uchida K. et Tanaka R. (1996). Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fisheries Sci.* 62 : 923–926.

Nedzarek A., Rakusa-Suszczewski S. (2004). Decomposition of macro algae and the release of nutrients in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Polar Biosci.* 17: 16-35.

Neumann P. M. (1995). The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits. *Crop science*, 35: 1258- 1266.

Norrie J., Keathley J.P.(2006). Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to “Thompson seedless’ grape production. *Acta Horti* 727: pp. 243-247.
of seaweed cultivation to the bioremediation of nutrient-rich effluent. *Algae*, 17 : 187-194.

Oren A. (2007). Diversity of organic osmotic compounds and osmotic adaptation in cyanobacteria and algae. In: Seckbach, J. (ed). *Algae and Cyanobacteria in Extreme Environments*. Springer, USA. 639–655.

Ozen T. (2009). Investigation of antioxidant properties of *Nasturtium officinale* (Watercress) leaf extracts. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*; 66 (2): 187-93.

Parida AK., Das AB. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60: 324-349.

Pavia H. et Brock E. (2000). Extrinsic factors influencing phlorotannin production in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* .193 :285-294.

Pereira., Rúben., Anabela Carvalho., Daniela C., Vaz. M. H. Gil., Ausenda Mendes., et Paulo Bártolo. (2013). « Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications ».

Peres J. C. F. Carvalho L. R. De., Gonçalez E., Berian L. O. S. et Felicio, J. D. (2012). Evaluation of antifungal activity of seaweed extracts. *Ciência E Agrotecnologia*, 36(3):294– 299.

Poustini K. et Siosemardeh A. (2004). Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Res.* 85: 125-133.

Ragan M.A., Glombitza K.W.(1986). **Phlorotannins**, brown algal polyphenols. In *Progress in Phycological Research*, Round FE and Chapman DJ (ed). Biopress Ltd: Bristol. 129-241.

Ragubeer N., Beukes DR., Limson J. L. (2010). Critical assessment of voltammetry for rapid screening of antioxidants in marine algae. *Food Chemistry.* 121: 227-232.

Ramadoss D., Lakkineni V. K., Bose P., Ali S. et Annapurna K. (2013). Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *Springer Plus.* Doi :10.1186/2193-1801-2-6.

Ramarajan S., Beschi A., Saravana G. (2013). Effect of seaweed extracts mediated changes in leaf area and pigment concentration in soybean under salt stress condition. *Research and reviews. J Life Sci.* 3: pp. 17-21.

Patolia J.S. (2009). Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. *S. Afr. J. Bot.* 75: 351 – 355.

Rayirath P, Benkel B, Hodges DM, Allan-Wojitas P, MacKinnon S, Critchley AT, Prithiviraj B. (2009). Lipophilic component of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum*, enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* .230: 135-147.

Ribeiro S.M.R., Barbosa L.C.A., Queiroz J.H., Knodler M., and Schieber A. (2008). Phenolics compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango varieties (*Mangifera indica* L.). *Food Chemistry* 110: 620–626.

Roberts M. F. (2005). Organic compatible solutes of halotolerant and halophilic microorganisms. *BioMed.* 1: 5-30.

Roussos PA., Denaka N.K. et Damvakaris T. (2009). Strawberry fruit quality attributes after application of plant growth stimulating compounds. *Scientia Horticulturae* .119: 138-146.

Sabeena Farvin K H et Jacobsen C. (2013). Phenolic compound and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish Coast. *Food chemistry*.138 : 1670-1681.

Sagervanshi P., Kumari A., Nagee.et A. Kumar. (2012) . Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from an agricultural soil, *Int. J. Life Sci. Pharma Res.* 2 :256-266.

Saidani K., Bedjou F., Benabdesselam F. et Touati N. Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. *Afr J Biotechnolo.* 11: 9496-9500.

Salantur A., Ozturk A., Akten S., Sahin F.et Donmez F. (2005). Effect of inoculation with nonindigenous and indigenous Rhizobacteria of Erzurum (Turkey) origin on growth and yield of spring barley. *Plant Soil.* 275:147–156.

Sarojini Y., Lakshminarayana K., Seshagiri P. et Rao. (2012). Variations in distribution of flavonoids in some seaweed of Visakhapatnam coast of India. *Der Pharma Chemica*. 4 (4) : 1481-1484.

Sava C., Sirbu R., (2010). Ovidius University Annals of Chemistry. 21 : 29-34.

Saxena S. C., Kaur H., Verma P., Petla B. P., Andugula V. R. et Majee M. (2013). Osmoprotectants: Potential for Crop Improvement under Adverse Conditions. In: Tuteja, N. and Gill S. S. (eds). *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Springer Science+Business Media, New York, USA, pp 197-232.

Silva Z., Borges N., Martins L. O., Wait R., da Costa M. S. et Santos, H. (1999). Combined effect of the growth temperature and salinity of the medium on the accumulation of compatible solutes by *Rhodothermus marinus* and *Rhodothermus obamensis*. *Extremophiles*. 3: 163-172.

Singh N., Ma Lq., Srivastava M. et Rathinasabapathi. (2006) Metabolic adaptations to arsenic induced oxidative stress in *Pteris vittata* L and *Pteris ensiformis* L. *Plant Science* .170: 274-282.

Singh J., Divakar Sastry E. V., Singh V. (2012). Effect of salinity on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) during seed germination stage. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 18(1): 45-50.

Singh R. P., Kumari P., & Reddy C. R. K. (2015). Antimicrobial compounds from seaweeds-associated bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(4) :1571–1586.

Singleton V.L. et Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, (16). 144-158.

Sivasankari S., Venkatesalu V., Anantharaj M., Chandrasekaran M. (2006). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresource Technology*. 97: 1745-1751.

Smalla K. (2006). Survival of gfp-tagged antagonistic bacteria in the rhizosphere of tomato plants and their effects on the indigenous bacterial community. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56: 207-218.

Smiatek J., Kumar RH., Rubner O., Galla H-J., Heuer A. (2011). Properties of compatible solutes in aqueous solution. <http://arxiv.org/abs/1010.4216v2>.

Souza, J.N.S., Silva, E.M., Loir, A., Rres, J.F., Rogez, H., Larondelle, Y. (2008). Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chemistry*, 106, 331-339.

Spinelli F., Fiori G., Noferini M., Sprocatti M., Costa G. (2010). A novel type of seaweed extract as a natural alternative to the use of iron chelates in strawberry production. *Sci Horti.* 125: 263-269.

Sridhar S., Rengasamy R. (2010). Effect of seaweed liquid fertilizer on the growth, biochemical constituents and yield of *Tagetes erecta*, under field trial. *J. Phytol.* 2: 61-68.

Stephenson W.A. (1974). Seaweed in Agriculture and Horticulture, 3rd edition, Rateaver, *PaumaValley*, California. 241p.

Stirk W.A., Reinecke D.L et Staden J.V. (2007). Seasonal variation in antifungal, antibacterial and acetylcholinesterase activity in seven South African seaweeds. *Journal of Applied Phycology*. 19: 271-276.

Stirk WA. et Van Staden J. (2014). Chapter Five - Plant Growth Regulators in Seaweeds: Occurrence, Regulation and Functions. *In* N Bourgougnon, ed, *Advances in Botanical Research*. Academic Press, 125–159.

- Subramanian S., Sangha J.S., Gray BA., Singh R.P., Hiltz D., Critchley AT., Prithiviraj B. (2011).** Extracts of the marine brown macroalga, *Ascophyllum nodosum*, induce jasmonic acid dependent systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 and *Sclerotinia sclerotiorum*. European Journal of plant Pathology DOI 10.1007/s10658-011-9802-6.
- Targett N.M.et Arnold T.M., (1998).** Predicting the effects of brown algal phlorotannins on marine herbivores in tropical and temperate oceans. J. Phycol. 34 :195-205.
- Thomas., Noel Vinay. et Se-Kwon Kim. (2013).** « Beneficial Effects of Marine Algal Compounds in Cosmeceuticals ». *Marine Drugs* 11 (1): 146. doi:10.3390/md11010146.
- Tierney M. S., Croft A. K. & Hayes M. (2010).** A review of antihypertensive and antioxidant activities in macroalgae. *Botanica Marina*, 53(5) : 387-408.
- Tounekti T., A. M. Vadel., M.Onate., M. Khemira. .et S. Munné-Bosch. (2011).** Salt induced oxydative stress in rosemary plants: damage or protection? *Environ. Exp. Bot.* 71 : 298-305.
- Tunçtürk M., R. Tunçtürk., B.Yildirim 0.V.Çiftçi.(2011).** Effect of salinity stress on Plant fresh weight and nutrient composition of some canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Afr. J. Biotech.* 10 (10):1827-1832.
- Turkman N., Sari F., and Sedat-Velioglu Y. (2006) .** Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods, *Food Chemistry* 99: 835-841.
- Van Oosten MJ., Pepe O., De Pascale S., Silletti S., Maggio A. (2017)** The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. *Chemical and biological Technologies in Agriculture.* 4:5
- Vaugelade P., Hoebler C., Bernard F., et al. (2000).** Non-starch polysaccharides extracted from seaweed can modulate intestinal absorption of glucose and insulin response in the pig. *Reprod Nutr Dev* 40: 33-47.

Vedura. (2018). <http://www.vedura.fr/economie/agriculture/engrais-chimiques>. (accessed, 15.06.2018).

Velegaleti R. R., Kumar D., Marsh S., Reichenbach N. G. et Fleischman, D. E. (1990). Some approaches to rapid and presumptions diagnosis of chemicals stress in plants. In: Wang, W., Gorsuch, J. W., Lower, W. R., (éds.) *Plants for toxicity assessment*.

Velikova V., Yordanov I., Edreva A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants : Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151: 59–66.

Vinod K.G., Amit R., Vikas K.N. et Kalishankar M. (2010). Antimicrobial activity of *Spondias pinnata* resin. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4 (16) 1656-1661.

Wang., Zhongyuan., Yue Zhao., Yan Jiang., Wei Lv., Lin Wu., Baoyan Wang., Lingyan Lv., Qunwei Xu. et Hongliang Xin. (2015). « Enhanced anti-ischemic stroke of ZL006 by T7-conjugated PEGylated liposomes drug delivery system ». *Scientific Reports* 5 (juillet): 12651.

Waterman P.G. et Mole S. (1994). Analysis of Phenolic Plant Metabolites. In: *Methods in Ecology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

Waughray D. (2011). Agriculture. In: Waughray, D. (ed). *The World Economic Forum Water Initiative, Water Security: The Water-Food-Energy-Climate Nexus*. World Economic Forum, Washington, USA, pp 17-43..

Wu Y., Jenkins T., Blunden G., Von Mende N. et Hankins S.D. (1998). Suppression of fecundity of the rootknot nematode, *Meloidogyne javanica*, in monoxenic cultures of *Arabidopsis thaliana* treated with an alkaline extract of *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Applied Phycology* .10: 91–94.

Yadav J., Verma J. P. et Tiwari K. N. (2011). Plant Growth Promoting Activities of Fungi and their effect on Chickpea Plant Growth. *Asian J. Biol. Sci.* doi:10.3923/ajbs.2011.

Yildiza G. Cs., Vatana O., Derea S. (2012). Determination of the Anti-Oxidative Capacity and Bioactive Compounds in Green Seaweed *Ulva rigida* C. Agardh. *International Journal of Food Properties.* 15:1182-1189.

Yoshie-Stark Y., Hsieh YP.et Suzuki T. (2003). Distribution of flavonoids and related compounds from seaweeds in Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries,* 89: 1-6.

Zhao H., Dai T. B., Jing Q., Jiang D., et Cao, W. X. (2007). Leaf senescence and grain filling affected by post-anthesis high temperatures in two different wheat cultivars. *Plant Growth Regul.* 51: 149-158.

Zheng Y., Chen Y.S., Lu H.S., (2001). Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology,* 19 (4). 327-33.

Zhu GY., JM. Kinet, S. Lutts. (2004). Characterization of rice (*Oryza sativa* L.) F3 populations selected for salt resistance: Relationship between yield-related parameters and physiological properties. *Aust J Exp Agric.* 44: 333-342.

Zhu J-K. (2001). Plant salt tolerance. *Trends Plant Science.* 6: 66 – 71.

Zid E., Grignon C. (1991). Les tests de sélection précoce pour la résistance des plantes aux stress. Cas des stress salin et hydrique. L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides, AUPELF-UREF. Jon Libbey Eurotext, Paris: 91- 108.

Zodape S.T., Mukhopadhyay S., Eswaran K., Reddy M.P. et Chikara J. (2010). Enhanced yield and nutritional in green gram (*Phaseolus radiata* L.) treated with seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) extract. *J Sci Indust Res.* 69: 468-471.

Annexes

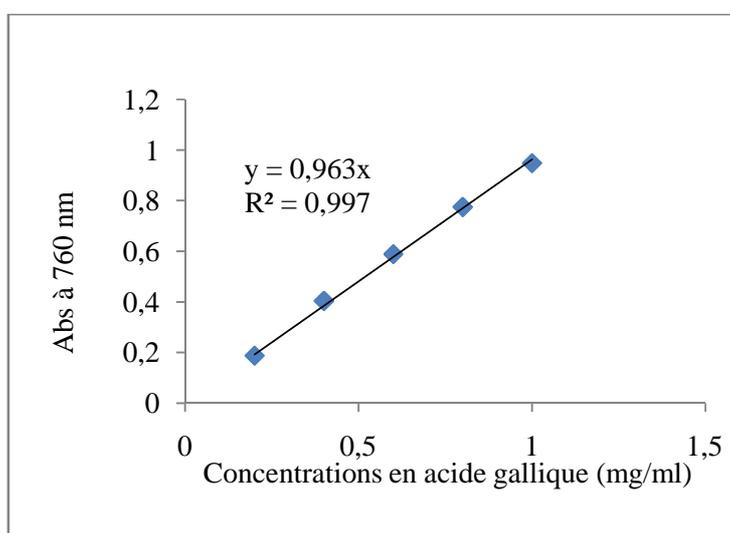
Annexe I. Composition des milieux de culture utilisés (pour un litre de milieu)

➤ Potato Dextrose Agar (PDA) :

Compositions	Quantité (g)
Pomme de terre	200
Glucose	20
Agar	15
pH	5.4±0.2

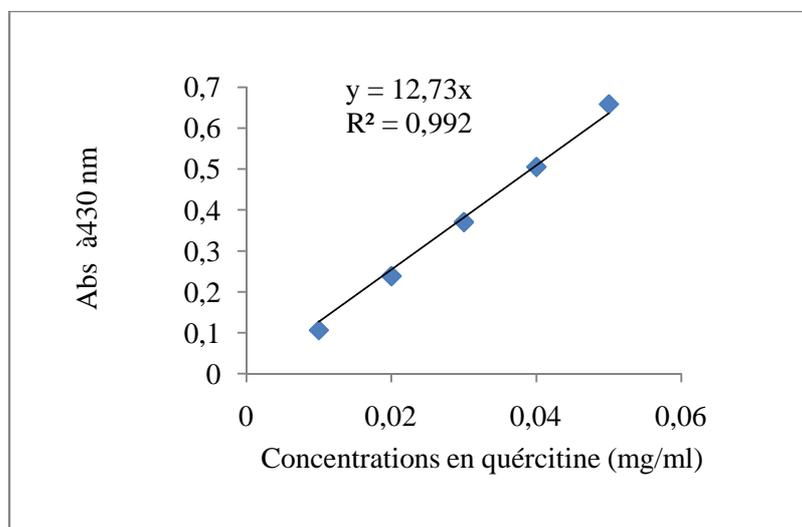
Annexe II : Courbes d'étalonnage

➤ courbe d'étalonnage des composés phénoliques

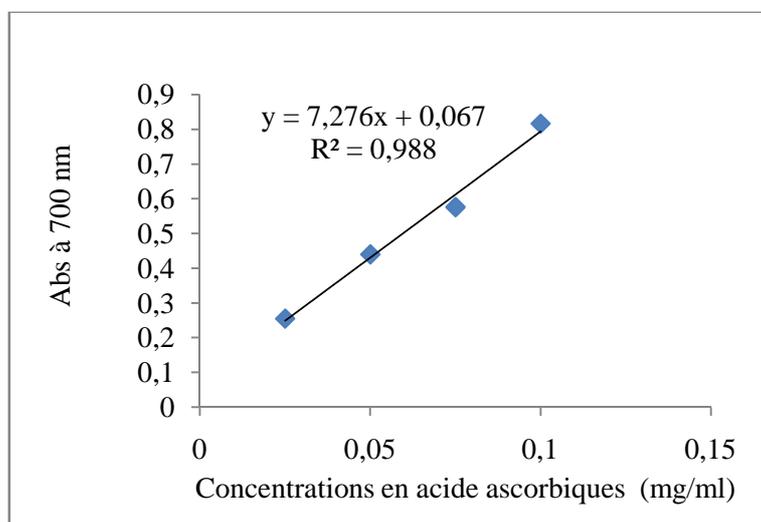


Annexe III : Courbe d'étalonnage

- Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

**Annexe IV : courbe d'étalonnage**

- Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur



Résumé : L'application des extraits d'algue afin de stimuler la croissance des plantes dans des conditions normales ou du stress est l'une des alternatives prometteuses de l'agriculture. Dans ce travail, l'algue marine *Cystoseira* sp. a été testée pour sa capacité à stimuler la croissance des petit pois (*Pisum sativum*) dans des condition normales. L'activité antifongique de trois type d'extraits (éthanolique, aqueux à froid et aqueux autoclavé), l'activité anti-oxydante (DPPH et le potentiel réducteur) ainsi que leur composition en polyphénols et flavonoïdes ont été évaluées. L'extrait d'algue *Cystoseira* sp. a été également testé pour sa capacité à restaurer la croissance de l'orge (*Hordeum vulgare*) sous stress salin (350mM) et les paramètre de croissance des tiges ; l'intégrité membranaire ; la peroxydation des lipides et le dosage de peroxyde d'hydrogène ont été effectués. Les résultats obtenus ont révélé la capacité de cet extrait à stimuler la plus part des paramètres de petit pois mesurés. L'extrait éthanolique de *Cystoseira* sp. s'est avéré le plus actif sur tout les champignons testés. Le dosage des composés phénolique des trois extraits a montré que les trois extraits sont riche en composés phénolique avec des valeurs variables, tout comme l'activité anti-oxydante (DPPH et le potentiel réducteur). Sous stress salin, l'extrait d'algue n'a montré aucun effet significatif sur les paramètres de la croissance mesurés (longueur, poids frais et sec des tiges), contrairement à la chlorophylle, où les deux concentrations en extrait d'algue ont montré un effet significatif. La mesure des paramètres du stress (intégrité membranaire ; peroxydation des lipides et peroxyde d'hydrogène) a révélé une capacité remarquable et significative de l'extrait d'algue à atténuer l'agressivité du stress salin sur les plantules d'orge.

Mots-clés : *Cystoseira* sp., Petit pois, Algues marines, stress salin, orge

Abstract: The application of marine algal-extracts to stimulate plant growth under normal or stress conditions is one of the promising alternatives for agriculture. Herein, the seaweed *Cystoseira* sp. was tested for its ability to stimulate pea (*Pisum sativum*) growth under normal conditions. The antifungal activity of three *Cystoseira* sp. - extracts (ethanolic, aqueous and aqueous autoclaved extract), the antioxidant activity (DPPH and the reduction potential) as well as their polyphenol and flavonoid composition were evaluated. *Cystoseira* sp. extract was also tested for its ability to restore barley (*Hordeum vulgare*) growth under salt stress (350mM) and shoot growth; membrane integrity; lipid peroxidation and the determination of hydrogen peroxide were performed. The obtained data revealed the ability of *Cystoseira* sp. extract to stimulate most of the measured pea parameters. *Cystoseira* sp. ethanolic extract was the most active against all tested fungi. Phenolic compounds determination revealed that all extracts are rich on phenolic compounds with variable values, as the antioxidant activity (DPPH and the reduction potential). Under salt stress, *Cystoseira* sp. extract showed no significant effect on barley growth parameter (length, fresh and dry weight of shoot) unlike chlorophyll, where both concentrations (50% AND 100%) showed a significant effect. The measurement of stress parameters (membrane integrity, lipid peroxidation and hydrogen peroxide) revealed the remarkable and significant ability of *Cystoseira* sp. extract to reduce the deleterious effect of salt stress on barley seedlings.

Keywords: *Cystoseira* sp., Pea, marine algae, salt stress, Barley