

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**



**Université de Béjaïa**  
**Faculté de Technologie**  
**Département de Génie des Procédés**



# Mémoire de Fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de

**Master**

**Filière : Génie des Procédés**

**Option : Génie Alimentaire**

**Thème**

**Effet des extraits d'algues marines sur la restauration  
de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin**

Présenté par :

**BETIT Nesrine et CHIHA Nawal**

Soutenu le 01 juillet 2019

Devant le jury composé de :

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	
Mr. BELHAMEL K.	Professeur	Président
Mme BEY Z.	MAB	Examinatrice
Mr. NABTI El-H.	Professeur	Promoteur
Melle. BENSIDHOUM L.	Docteur	Co-promotrice

**Année universitaire : 2018 / 2019**



## ***Remerciement***

*Avant tout, on remercie, Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier infiniment et avec gratitude notre encadreur Mr. NABTI El-Hafid, pour ses encouragements et sa confiance. Sa rigueur scientifique, sa pédagogie et ses conseils nous ont aidés à mener à bien ce travail.*

*Nos vifs et sincères remerciements vont à notre Co-promotrice Mlle. BENSIDHOUM Leila, pour sa patience, son aide très précieuse, son soutien, son suivi attentifs, ses corrections sérieuses et sans oublier ses conseils tout au long de notre travail.*

*Nous tenons à remercions très sincèrement Mr. BELHAMEL K. d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance, ainsi que Mme Bey Z. d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous remercions également, l'équipe Biomasse et Environnement du Laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelables : Sylia, Nadia, Nouria, Nassira et Mr. ABBACI H. pour leur disponibilité, leur aide et leur conseils et patience.*

*Merci à Lydia, Sabrina, Sonia et Hassiba pour leurs soutient et les bons moments passer ensemble.*

*Nous tenons à remercier toutes les étudiantes de notre promotion (2018/2019) et plus particulièrement BOUBEKEUR Sara et AIT BRAHEM Wardia, merci pour vos encouragements.*

*Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

***Nawal & Nesrine***

# Dédicaces



*Je dédie ce travail :*

*Avant tout à mes très chers parents pour qui aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect. Je vous dois tellement...*

*Merci pour l'amour que vous m'offrez depuis ma naissance, pour vos sacrifices et pour vos encouragements ; Dieu seul sait à quel point je me sens chanceuse de vous avoir comme parents. J'espère être à la hauteur de vos attentes.*

*Puisse Dieu vous accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A mes deux sœurs Lydia et Inès, je tiens à vous exprimer mon amour infini que je vous porte.*

*Lydia, ça ne suffit pas de dire simplement ma sœur, tu es bien plus qu'une sœur. Avec ta tendresse, ton amour et ton soutien tu es bien ma mère. Je ne trouve pas les mots pour te décrire mon amour et ma reconnaissance pour toi. Je te souhaite tout le bonheur du monde, que Dieu te bénisse.*

*Inès, mon petit ange qui m'a soutenu pendant mes moments de faiblesse, de peur et de stress. Mon petit renard, avec qui j'ai partagé des moments de folie et d'extase, je te dédie ce travail. Je te souhaite un avenir plein de réussite et de joie.*

*A mes très chers grands-parents paternels Bachir et Djamila, que Dieu vous accorde santé et longue vie. A mon grand-père Foudil que Dieu te guérisse et à la mémoire de ma très chère grand-mère Hadda, que Dieu garde ton âme dans son vaste paradis.*

*A mon fiancé Islem, je tiens à te remercier pour ta compréhension, ta patience, ta tendresse et ta confiance. Tu m'as toujours soutenu et réconforté, tu as supporté mes caprices pendant certaines périodes de ce parcours. Que Dieu te bénisse.*

*A tous mes oncles et tantes maternels et paternels, à tous les membres de ma famille, je vous remercie pour votre soutien et amour.*

*A mes très chères amies : Imane, Tassadite, Nerine et Rbiha, je vous remercie pour les moments inoubliables, nos aventures, nos fous rires, stress et bêtises ; merci pour le plaisir dont j'ai joie avec vous.*

**Nawal**



## Dédicaces



*Je dédie ce travail :*

*A mes très chers parents, qui sont le pilier dont je me suis lourdement reposé, source de soutien sans répit, vous avez contentés de m'encourager et de croire en moi, rien au monde ne vaut vos efforts fournis pour mon éducation et mon bien être. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur*

*A ma chère sœur Hana et sa copine, mon cher frère Anis : les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous .je vous dédie ce travail avec tous mes meilleurs vœux de bonheur et de réussite.*

*A mes grands-parents paternels et maternels qui m'ont appris les valeurs de la vie. A tous les membres de ma famille, Je vous dédie ce travail en témoignant de mon attachement, l'amour et de mon affection que je prouve pour vous.*

*Une spéciale dédicace a deux personnes qui comptent énormément pour moi, et pour qui je porte beaucoup de tendresse et de respect : Chahinez et Nawal Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous, Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser à votre tour vos vœux les plus chers.*

**Nesrine**





## Sommaire

Liste des figures

Liste des Abréviations

**Introduction..... 1**

### Synthèse Bibliographique

#### Les algues : Une source prometteuse d'alternatives

**I. Les algues..... 3**

**I.1. Caractéristiques générales des algues ..... 3**

**I.2. Classification des algues..... 3**

**I.3. Composition chimique des algues.....3**

**I.4. Principales utilisations des algues.....4**

**I.4.1. Médicale et pharmaceutique.....4**

**I.4.2. Cosmétique .....5**

**I.4.3. Agricole ..... 5**

**I.4.4. Environnemental..... 5**

**I.4.5. Industrie agro-alimentaire.....6**

**II. Effets des algues sur les plantes ..... 6**

**II.1. Effet des algues sur la croissance et le développement des plantes..... 6**

**II.2. Effet des algues sur la résistance des plantes aux stress..... 7**

**II.2.1. Plante sous stress biotique ..... 7**

**II.2.2. Plante sous stress abiotique..... 7**

**II.3. Effet des algues sur le métabolisme des plantes.....8**

<b>III. Mode d'application des algues</b> .....	8
<b>IV. La salinité</b> .....	9
<b>IV.1. Effet de la salinité sur les plantes</b> .....	10
<b>IV.1.1. Effet de la salinité sur la germination</b> .....	10
<b>IV.1.2. Sur l'absorption d'eau et de nutriments</b> .....	10
<b>IV.1.3. Sur la génération des espèces oxygénées réactives</b> .....	10
<b>IV.1.4. Sur les pigments photosynthétiques</b> .....	10
<b>IV.2. Effet de la salinité sur la structure du sol</b> .....	11
<b>V. Les algues : une alternative prometteuse au problème de salinité</b> .....	11
<b>V.1. Les algues et les solutés compatibles</b> .....	11

## **Matériels et Méthodes**

### **Partie I: Activité antifongique, antibactérienne et anti-oxydante des extraits d'algues (*Cystoseira* sp.et *Enteromorpha intestinalis*)**

<b>1. Préparation des extraits d'algue</b> .....	14
<b>1.1. Préparation de l'extrait aqueux autoclavé</b> .....	14
<b>1.2. Préparation de l'extrait Ethanolique</b> .....	14
<b>2. Activité antifongique</b> .....	14
<b>2.1. Les espèces fongiques</b> .....	15
<b>2.2. Test d'activité antifongique des extraits d'algues</b> .....	15
<b>3. Activité antibactérienne</b> .....	16
<b>3.1. Les bactéries testées</b> .....	16
<b>3.2. Test d'activité antibactérienne des extraits d'algues</b> .....	16
<b>4. Test d'activité anti-oxydante des extraits d'algues</b> .....	16

<b>4.1. Dosage des polyphénols .....</b>	<b>17</b>
<b>4.2. Dosage des Flavonoïdes .....</b>	<b>18</b>
<b>4.3. Mesure de l'activité anti-oxydante .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.1. Effet scavenger du radical DPPH .....</b>	<b>19</b>
<b>4.3.2. Pouvoir réducteur .....</b>	<b>20</b>

**Partie II : Effets de l'extrait d'algue *Cystoseirasp.* sur la restauration de la germination et la croissance de l'orge cultivé sous stress salin**

<b>1. Préparation des extraits d'algues .....</b>	<b>22</b>
<b>2. Effet des extraits d'algue sur la restauration de la germination et de la croissance de l'orge cultivé sous stress salin .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Désinfection de la surface des graines .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2. Protocole expérimental.....</b>	<b>22</b>
<b>2.3. Effet des extraits d'algues <i>Cystoseirasp.</i> sur la germination des graines d'orge sous stress salin.....</b>	<b>23</b>
<b>2.4. Effet des extraits de <i>Cystoseirasp.</i> sur la croissance de l'orge sous stress salin.....</b>	<b>24</b>
<b>2.5. Dosage de la teneur en chlorophylle.....</b>	<b>25</b>
<b>2.6. Analyse statistique .....</b>	<b>26</b>

**Résultats et Discussion**

**Partie I: Activité antifongique, antibactérienne et anti-oxydante des extraits d'algues (*Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*)**

<b>1. Activité antifongique et antibactérienne des extraits d'algue.....</b>	<b>27</b>
<b>2. Teneur en composés phénoliques.....</b>	<b>30</b>
<b>3. Activité anti-oxydante.....</b>	<b>32</b>

<b>3.1. Effet de piégeage du radical DPPH .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2. Test de potentiel réducteur .....</b>	<b>33</b>

**Partie II : Effets de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la germination et la croissance de l'orge cultivé sous stress salin**

<b>1. Détermination de l'halotolérance des graines d'orge.....</b>	<b>36</b>
<b>2. Effet de l'extrait d'algue <i>Cystoseira</i> sp. sur la germination des graines d'orge sous stress salin .....</b>	<b>37</b>
<b>3. Effet de l'extrait d'algue <i>Cystoseira</i> sp. sur la croissance des graines d'orge sous stress salin.....</b>	<b>38</b>
<b>4. Effet de l'extrait <i>Cystoseira</i> sp. et le stress salin sur la teneur de l'orge en chlorophylle.....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>42</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>43</b>

**Annexe**



## **Liste des figures**

<b>Figure 1:</b> Méthodes d'application des extraits d'algues, et leurs effets et mécanismes d'action sur les plantes (Wajahatullah, et al. 2009).....	9
<b>Figure 2 :</b> Site de prélèvement des échantillons d'algues marines.....	13
<b>Figure 3 :</b> Aspect de la poudre des deux algues.....	14
<b>Figure 4 :</b> Les espèces fongiques testées .....	15
<b>Figure 5:</b> Mise en évidence de l'effet antifongique des extraits d'algues.....	16
<b>Figure 6 :</b> Les bactéries testées.....	16
<b>Figure 7 :</b> Mise en évidence de l'effet antibactérien des extraits d'algue.....	17
<b>Figure 8 :</b> Schéma illustrant les différentes étapes du dosage des Polyphénols.....	18
<b>Figure 9 :</b> Schéma illustrant les différentes étapes du dosage des Flavonoïdes.....	18
<b>Figure 10 :</b> Réduction du radical DPPH par un antioxydant.....	19
<b>Figure 11:</b> Schéma illustrant les différentes étapes de la mesure de DPPH.....	20
<b>Figure 12 :</b> Schéma illustrant les différentes étapes de la mesure du Pouvoir réducteur.....	21
<b>Figure 13 :</b> Les différentes étapes du test d'halotolérance des graines d'orge.....	23
<b>Figure 14 :</b> schéma illustrant les différentes étapes du test de germination sous stress salin..	24
<b>Figure 15 :</b> Schéma illustrant les différentes étapes du test de croissance d'orge sous stress salin.....	25
<b>Figure 16:</b> Valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des espèces fongiques par les extraits d'algues.....	28
<b>Figure 17:</b> Valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des bactéries testées par les extraits d'algues.....	29
<b>Figure 18 :</b> Teneur en composés phénoliques des extraits d'algue.....	31
<b>Figure 19 :</b> Les pourcentages de réduction du radical DPPH par les extraits d'algue.....	33
<b>Figure 20:</b> La capacité réductrice des extraits d'algues.....	34

**Figure 21:** Pourcentage de germination des graines d'orge sous stress salin.....36

**Figure 22 :** Pourcentage de germination des graines d'orge sous stress salin en présence des extraits d'algue *Cystoseira* sp.....37

**Figure 23 :** Effet des extraits de *Cystoseira* sp. sur la restauration des différents paramètres de croissance de l'orge en présence et en absence du stress salin.....38

**Figure 24 :** Quantités de chlorophylle a, b et totale de l'orge cultivé sous stress salin en présence des différentes concentrations d'extrait d'algue *Cystoseira* sp.....40

**Liste des abréviations**

**DMSO** : Diméthyl sulfoxyde

**DMSP**: Dimethyl sulfonio propionate

**DPPH**: Diphényl picryl-hydrazyl

**MH**: Muller-Hinton

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**TCA**: Acide trichloracétique

## **Introduction**

Les changements climatiques constituent une grave menace pour la croissance et le développement des plantes notamment dans les zones semi-arides et arides (Belkhodja et al., 2004). L'Algérie fait partie du groupe des pays méditerranéens où la sécheresse, observée depuis longtemps, a conduit manifestement au processus de salinisation des sols (Gaucher et al., 1974).

La salinisation des sols est l'un des principaux stressés abiotiques limitant la productivité des plantes et par conséquent la production agricole. Elle représente une menace pour l'équilibre alimentaire mondial (Dutuit, 1999). Cette salinité peut être naturelle ou induite par des activités agricoles comme l'irrigation (avec de l'eau de faible qualité) ou l'utilisation de certains types d'engrais chimiques (Bartels et Nelson, 1994; Rubio et al. 1995). Les effets indésirables de ces engrais sur l'environnement encouragent l'étude de nouvelles sources naturelles d'engrais, et de biostimulants pour améliorer la qualité des sols.

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 et la protection des plantes. Elles sont considérées comme une catégorie principale des biostimulants (Du Jardin, 2012).

De nombreuses études ont révélé un large éventail d'effets bénéfiques de l'application des extraits d'algues sur les plantes tels que la germination et l'établissement précoces des semences, l'amélioration du rendement des cultures, une résistance au stress biotique et abiotique par augmentation de la concentration des molécules bioactives, notamment des antioxydants (Norrie et Keathley, 2006 ; Eyraş et al. 2008 ; Fan et al. 2011), l'amélioration de l'architecture des racines des plantes, facilitant ainsi l'absorption des nutriments (Battacharyya et al., 2015).

L'objectif principal de ce travail est de proposer un bioprocédé visant à restaurer la croissance des plantes cultivées dans des sols salins.

Le manuscrit est organisé en trois parties :

**La partie I** : rapporte une synthèse bibliographique sur les algues marine et le problème de salinité ;

**La partie II** : est réservée au matériel et méthodes utilisés dans cette investigation ;

**La partie III** : est consacrée aux résultats et discussion.

## **I. Les algues**

### **I.1. Caractéristiques générales des algues**

Les algues peuvent être définies comme étant des organismes vivants photosynthétiques thallophytes qui possèdent de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène (Gayral, 1975). Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur (Durand et Lévêque, 1980). Les algues possèdent un appareil végétatif peu évolué, sans racines, ni tiges, ni feuilles, ni vaisseaux conducteurs (Diaz-paulido et McCook, 2008 ; Arunachalam et al., 2014) et la majorité se compose d'un crampon, d'une fronde et certaines possèdent un stipe (devaney et al., 2012).

### **I.2. Classification**

La répartition des algues dépend d'un certain nombre de facteurs spécifiques tels que les composantes de la paroi cellulaire, les pigments présents et le cycle de vie (Memory, 2006). A partir de ces critères, les algues sont réparties en trois grandes divisions (Davis et al. 2003) :

- Algues vertes (Chlorophyta) : Chlorophylle a, b ;  $\alpha$ -,  $\beta$ - et  $\gamma$ -carotènes et plusieurs xanthophylles.
- Algues brunes (Phaeophyta) : Chlorophylle a, b ;  $\beta$ -carotène et fucoxanthine et plusieurs autres xanthophylles
- Algue rouge (Rhodophyta) : Chlorophylle a (quelque Florideophyceae) ; R-phycoyanine et C-phycoyanine, allophycoyanine ; R- et B phycoérythrine.  $\alpha$ - et  $\beta$ -carotène et plusieurs xanthophylles.

### **I.3. Composition chimique**

La composition des macro-algues est très variable selon les espèces, la saison, les conditions de croissance et le stress (Julie, 2010). L'intérêt des macro-algues s'explique par la présence de trois catégories de composants : des protéines, des fibres et des minéraux. Elles contiennent aussi des métabolites avec des propriétés anti oxydantes (Bhagavathy et al., 2011 ; El Hassouni et al., 2013), antimicrobiennes (Helillo et al., 2001 ; Yeon-Hee et al., 2013 ; Al-Saif et al., 2014), antifongiques et anti-inflammatoires (Chiheb et al., 2011 ; El Hassouni et al., 2013).

Les algues peuvent contenir aussi des polyphénols tels que ; les phlorotannins, les flavonoïdes (catéchines) (Demoulin et Leymergie, 2009), elles 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 et de nombreux autres oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium, le molybdène, le fluor, le brome, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt (Viguerie et al., 2002).

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 (Iouvieux, 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).

## **I.4. Principales utilisations**

Les organismes marins sont une source de produits naturels structurellement uniques et de grande valeur, ayant des activités pharmacologiques et biologiques très variées. Prenant l'exemple de l'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).

### **I.4.1. Médicale et pharmaceutique**

Parmi les organismes marins, les macroalgues occupent une place importante en tant que source de composés biomédicaux. Environ 2 400 produits naturels ont été isolés à partir d'algues marines (Jayaprakash et al., 2016). Les composés dérivés d'algues ont une large gamme d'activités, telles que l'activité antioxydante, antimutagène, anticoagulante, anti-inflammatoire et anticancéreuse. D'après l'histoire, les pays maritimes traitent les plaies avec des algues et ils les utilisent comme vermifuge, anesthésique et pommade, ainsi que pour traitement de la toux, plaies, goutte, goitre etc. (Dhargalkar et Pereira, 2005). L'alginate est utilisé comme agent désintégrant et dispersant (Garneau et Collins, 1995 ; Faller, 2011) et dans la fabrication de compresse et comme principe actif de médicament (Vincent, 2010). En industrie pharmaceutique, les algues et leurs produits sont utilisés pour le développement de

nouveaux médicaments contre le cancer, l'inflammation et les infections microbiennes (Premila et al., 1996; Kim et al., 1997; Okai et al., 1997; Elena et al., 2001). Les algues sont aussi utilisées pour traiter les rhumatismes ou certaines affections de l'appareil locomoteur, pour le traitement de constipation, comme vermifuge, anesthésique et pommade et pour le traitement de la toux, des blessures, de la goutte et de goitre (Dhargalkar et Pereira, 2005).

### **I.4.2. Cosmétique**

Les algues constituent une source précieuse de minéraux et de vitamines qui jouent un rôle dans les soins de la peau. Elles sont largement utilisées dans la filière cosmétique comme un ingrédient clé dans les produits cosmétiques tels que les savons, shampooings, poudres, crèmes, sprays, rouge à lèvres et produits du maquillage (Dhargalkar et Pereira, 2005).

### **I.4.3. Agricole**

Les algues sont utilisées depuis l'antiquité pour fertiliser les sols, leur richesse en minéraux permet d'améliorer la composition des sols et la productivité des cultures (Craigie, 2010). Elles permettent également de renforcer les défenses naturelles des plantes contre les agresseurs externes (parasites, champignon, etc.), une augmentation de taux de croissance et une meilleure germination des graines, une bonne résistance aux stress, une augmentation de l'absorption des nutriments, un changement dans la composition des tissus des plantes et un développement plus profond des racines (Zodape, 2001).

### **I.4.4. Environnemental**

L'utilisation des populations de macroalgues à grande échelle peut fournir des technologies nouvelles et rentables pour la réduction de la diffusion des contaminants d'origine hydrique comme les métaux lourds, les bactéries pathogènes, les virus, etc. (Chouikhi, 2013). Les rejets agricoles, urbains ou salmonicoles polluent généralement les régions côtières, 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 algues constituent un moyen potentiel pour la restauration de la croissance des cultures sous stress abiotique (Nabti et al., 2007 ; Arif et al., 2016) grâce à leurs composants chimiques et leur valeur nutritionnelle ainsi qu'aux propriétés physiques de leurs polysaccharides qui améliorent la structure du sol (Kim, 1970).

### **I.4.5. Industrie agro-alimentaire**

L'utilisation des algues comme aliment remonte au 14<sup>ème</sup> siècle au Japon et au 16<sup>ème</sup> siècle en Chine. Elles ont plus de 54 oligo-éléments nécessaires au développement humain, ces algues sont une source précieuse de vitamines A, B1, B12, C, D et E, de riboflavine, niacine, et acide folique 3,4 ainsi que de minéraux tels que Ca, P, Na, K. Leur contenu en acides aminés est bien équilibré et contient des acides aminés essentiels et nécessaires à la vie et à la santé (Dhargalkar et Pereira, 2005). Les algues et leurs produits entrent dans de nombreux aliments de l'industrie agro-alimentaire comme étant une source de nutriments comme les carraghénanes, les agars et les alginates etc. Les industries alimentaires utilisent les carraghénanes dans les produits lactés tels que les crèmes, les flans, les glaces etc., ce composé permet aussi la stabilité des pulpes des jus de fruits. L'industrie utilise l'agar-agar comme étant un agent épaississant et stabilisant pour les crèmes glacées et les tartes etc., elles l'utilisent également pour la fabrication de confiseries puisqu'il n'a pas de goût et le sucre augmente sa puissance gélifiante (Alem, 2015).

## **II. Effets des algues sur les plantes**

Les algues constituent un moyen de lutte contre les stress que peuvent subir les plantes, elles ont été appliquées depuis l'antiquité directement sur le sol des champs cultivés comme compost. Certains effets sont constatés sur les plantes telles que l'augmentation de la croissance et du rendement, ces effets sont attribués soit à l'amélioration de la structure du sol avec une augmentation de la rétention d'eau, soit à une meilleure disponibilité des nutriments résultant de la dégradation des molécules organiques apportées par les algues (Hurtado et al. 2009). Les algues et leurs produits peuvent agir sur plusieurs paramètres de la croissance de la plante (Fig. 1).

### **II.1. Effet des algues sur la croissance et le développement des plantes**

Les algues sont des biostimulants de la croissance des plantes et des biofertilisants des sols. Elles agissent sur les caractéristiques physiques et biologiques des sols grâce à leur richesse en polyuronides (les alginates et les fucoïdanes) qui gardent dans les sols une humidité et une aération nécessaires à la mise en place du système racinaire et qui favorisent la croissance des bactéries bénéfiques à la croissance des plantes (Khan et al. 2009). Une fois appliquées sur les plantes ou dans les sols, les extraits d'algues stimulent la croissance et le développement racinaire des plantes, augmentent le rendement, le poids des fruits, la teneur

de la plante en chlorophylle et ils améliorent aussi la tolérance des plantes au stress (Van Oosten, 2017). Les extraits d'algues accélèrent 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).

## **II.2. Effet des algues sur la résistance des plantes aux stress**

Dans la nature, les plantes sont confrontées à plusieurs stress. En plus de leurs effets directs sur la croissance et le développement des plantes, les extraits d'algues peuvent stimuler les systèmes de défense naturels des plantes en réponse aux stress biotiques ou abiotiques (Mercier et al. 2001 ; Cluzet et al. 2004 ; Jayaraj et al. 2008 ; Subramanian et al. 2011).

### **II.2.1. Plantes sous stress biotiques**

Les algues constituent un moyen de défense contre les maladies et les parasites de type fongiques, leurs compositions riches et variées en substances bioactives favorisent la stimulation des systèmes de défense naturels des plantes aux stress biotique (Mercier et al., 2001 ; Cluzet et al., 2004 ; Jayaraj et al., 2008 ; Subramanian et al., 2011 ; jannin, 2012). Ces algues diminuent les attaques des nématodes et des aphides en réduisant leur fécondité (Wu et al, 1998), elles permettent également de diminuer le nombre et la taille des lésions de plantes infectés par des bactéries phytopathogènes (Subramanian et al., 2011).

### **II.2.2. Plantes sous stress abiotique**

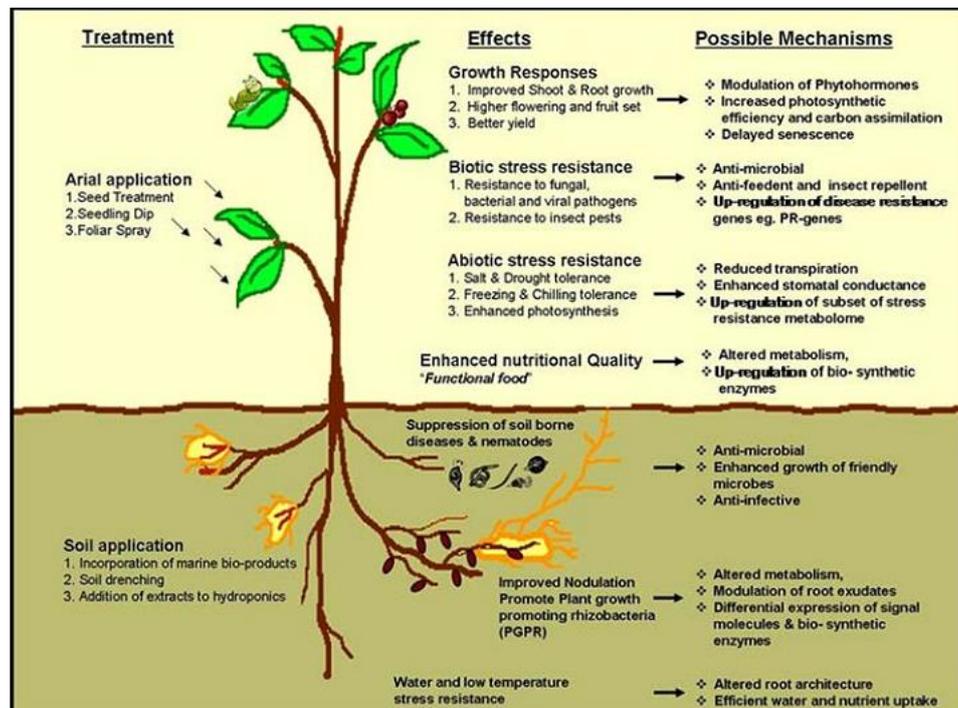
Le stress abiotique comme le froid la salinité et la sécheresse est un facteur défavorable majeur qui peut affecter la qualité et la productivité des cultures. Plusieurs auteurs ont rapporté que l'emploi des extraits d'algues améliore la résistance des plantes aux stress abiotiques (Wu et al., 1998 ; Mancuso et al., 2006 ; Rayirath et al., 2009 ; Khan et al., 2009), ils suggèrent que ces activités soient liées à leur composition en nutriments, en phytohormones et en osmo-régulateurs, comme la glycine bêtaïne, qui permettent aux plantes de s'adapter aux stress thermique, hydrique et salin (Mäkelä et al., 1999 ; Khan et al., 2009 ; McNeil et al., 1999). Les propriétés anti-oxydantes des algues et leurs produits permettent aux plantes de mieux gérer le stress oxydant provoqué par les radicaux libres (Jeannin, 1991 ; Bradacova, 2016).

### II.3. Effet des algues sur le métabolisme des plantes

Plusieurs auteurs ont montré que les extraits d'algues, une fois appliqués sur les plantes, stimulent l'absorption des nutriments tels que N, P, S et K et permettent ainsi une meilleure stimulation du métabolisme de ces derniers (Jannin, 2012). Cette stimulation est due à la richesse des algues en nutriments (Durand et al. 2003). L'augmentation des teneurs en magnésium et en zinc dans les feuilles et la tige et l'amélioration de l'influx stomatique de K<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup> en réponse à l'extrait algal a été rapporté par certains auteurs (Schwartz et al., 1988). Plusieurs auteurs (Mérigout, 2006 ; Rathore et al., 2009 ; Battacharyya et al., 2015) ont également exhibé l'augmentation des activités enzymatiques en réponse aux extraits d'algues appliqués.

### III. Mode d'application des algues

Les algues marines sont utilisées dans les cultures agricoles et horticoles sous plusieurs formes (Fig. 1). Elles peuvent être utilisées sous forme de biomasse ou farine d'algues qui sont appliquées dans le sol avant la plantation des cultures afin de faciliter la décomposition microbienne de l'algue (Battacharyya et al., 2015), ou bien sous forme d'extraits liquides qui peuvent être appliqués soit en pulvérisation foliaire en combinaison avec d'autres traitements fertilisants, soit directement sur le sol à proximité des racines des plantes (Jannin, 2012).



**Figure 1 :** Méthodes d'application des extraits d'algues, et leurs effets et mécanismes d'action sur les plantes (Wajahatullah, et al., 2009).

## **IV. La salinité**

La salinité est un stress édaphique majeur qui affecte négativement les terres agricoles. Les sels dans le sol se présentent sous forme d'ions, ils sont libérés soit par l'altération des minéraux dans le sol, soit par le biais d'eaux d'irrigation ou d'engrais, soit parfois remontent dans le sol à partir d'eaux souterraines peu profondes (Shrivastava et Kumar, 2015). Le stress salin est l'une des principales contraintes abiotiques (Bartels et Sunkar, 2005 ; Chadli et Belkhodja, 2007) responsables de la réduction du développement des plantes, de la réduction des terres cultivables et de la dégradation de la qualité des sols et des eaux souterraines menaçant l'équilibre alimentaire de ces régions (Dehni, 2018). En 2004, les Nations Unies estimaient qu'à la fin de 2050, la population humaine dépasserait 10 milliards d'individus. La perte de production agricole due à la salinité du sol est directement en conflit avec la demande en nutriments de cette population croissante et le défi de maintenir les disponibilités alimentaires mondiales (Joseph et Jini, 2010).

### **IV.1. Effet de la salinité sur les plantes**

La salinité peut entraver le développement de plusieurs stade de cycle de vie des plantes, tels que la germination des graines, la croissance des plantes, la reproduction, la biosynthèse de phytohormones et d'autres facteurs de régulation de la croissance des plantes, l'absorption des nutriments, les activités des enzymes et la photosynthèse (Almansouri et al., 1999; Sudhir et Murthy, 2004; Nabti et al., 2015).

#### ***IV.1.1. Effet de la salinité sur la germination***

La plupart des plantes sont plus sensibles à la salinité durant leurs phases de germination (Maillard, 2001). Plusieurs études ont montrés que le sel a un effet dépressif sur le taux de gémination des graines et de leur croissance biologique (Rahmoune et al., 2001), les effets inhibiteurs imposés par la salinité sur le processus de la gémination peuvent être également expliqué par l'altération des enzymes et des hormones de la graine (Larcher, 1995).

#### ***IV.1.2. Sur l'absorption d'eau et de nutriments***

La salinité réduit l'absorption des nutriments par les plantes, ce qui affecte leur croissance et leur développement. Elle est à l'origine de la compétition entre les ions toxiques et les éléments nutritifs pour les sites de fixation et les protéines de transport dans les cellules

racinaires (Tester and Davenport, 2003), ce qui conduit à un déséquilibre ionique, une déficience en nutriments et/ou une toxicité ionique (Grieve et Shannon, 1999) et par conséquent la concentration en éléments nutritifs sera réduite dans toute la plante.

#### ***IV.1.3. Sur la génération des espèces oxygénées réactives***

Comme tous les stressés abiotiques, la salinité entraîne un stress oxydatif en raison de la production et de l'accumulation accrues d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans la cellule telles que le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles, qui sont nuisibles à la survie des plantes et peuvent endommager les membranes cellulaires, les protéines, les acides nucléiques et les enzymes (Azevedo Neto et al., 2008; Mishra et al., 2009; Shahbazi et al., 2011).

#### ***IV.1.4. Sur les pigments photosynthétiques***

La photosynthèse est considérée comme la première source de production de la matière sèche chez les plantes. La salinité réduit la capacité de photosynthèse principalement par le biais de la fermeture complète ou partielle des stomates et du stress osmotique (Meloni et al. 2003), pour résister les plantes réduisent la surface de leurs feuilles (Munns et al., 2000) ou en limitant l'ouverture des stomates, ce qui réduit la transpiration et empêche la perte de l'eau (El-Kaoua et al., 2006). Le taux de chlorophylle et de caroténoïdes des feuilles diminue généralement sous les conditions de stress salin, les feuilles les plus âgées commencent à développer une chlorose et finissent par tomber sous l'effet du stress salin (Agastian et al., 2000).

### **IV.2. Effet de la salinité sur la structure du sol**

La structure d'un sol peut être définie comme le regroupement des 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 (Lavelle et Spain, 2001). La texture basique du sol peut être altérée par la concentration élevée en  $\text{Na}^+$ , qui induit une diminution de la porosité et par conséquent la réduction de l'aération du sol et de la conduite de l'eau, ce qui empêchant la plante d'acquiescer l'eau nécessaire pour son développement (Mahajan et Tuteja, 2005 ; Porcel et al., 2012).

## **V. Les algues : une alternative prometteuse au problème de salinité**

Les maladies des plantes dues aux pathogènes ainsi qu'aux facteurs abiotiques sont interconnectés dans les sols salins. Plusieurs stratégies sont utilisées pour limiter les effets délétères du NaCl sur les plantes, ainsi pour aboutir à des rendements meilleurs sous contrainte de salinité élevée : la première fait recours à des modifications physiologiques et morphologiques de l'organisme, alors que la deuxième est biochimique, elle est relativement simple et basée sur la production et l'accumulation des solutés compatibles (Bohnert et al., 1999). Par leur composition riche en phytohormones, polysaccharides, éléments nutritifs et vitamines, solutés compatibles les algues peuvent protéger et stimuler la croissance de la plantes dans les conditions normales ou de stress.

### **V.1. Les algues et les solutés compatibles**

Les solutés compatibles sont des composés organiques de faible poids moléculaire, ils sont dits « compatibles » car ils n'influent ni sur le métabolisme cellulaires, ni sur le fonctionnement des enzymes et des protéines de l'organisme (Oren, 2003). Ces composés peuvent provenir soit du milieu environnant, soit synthétisés à l'intérieur du cytoplasme (Gutierrez et al., 1995), leur accumulation aide au maintien de la pression de turgescence, du volume cellulaire, des concentrations d'électrolytes et d'autres éléments importants pour la prolifération cellulaire (Roberts, 2005).

Une grande variété de solutés compatibles a été identifiée, les mieux connus sont la glycine bêtaïne, les sucres simples tels que le sucrose et le tréhalose, des polyalcools (glycérol, arabitol, mannitol) des acides aminés et dérivés (glutamine, proline, DMSP) (Oren, 2007).

Certains de ces composés n'ont aucun effet sur la croissance cellulaire en milieu à forte osmolarité, les autres, par contre, ont un important effet de stimulation sur le taux de croissance lorsqu'ils sont ajoutés au milieu de culture, ils sont appelé (osmoprotecteurs) (Strom et Coll, 1983). La présence de ces molécules permet aux plantes de résister aux conditions extrêmes telles que les variations de la salinité élevée. Il a été prouvé que l'accumulation du mannitol (Shen et al., 1997), glycine- bêtaïne (Prasad et al., 2000), et de proline (Zhu et al., 1998) améliorent la tolérance des plantes au stress salin. Elles stabilisent les protéines et les membranes pendant les dommages oxydatifs induits par les « EOR »

(Saxena et al, 2013). 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.

De par leur composition riche en phytohormones, polysaccharides, éléments nutritifs et vitamines, les algues peuvent protéger et améliorer la croissance des plantes dans un environnement normal et stressé. En outre, ils constituent la principale source de solutés compatibles pour les plantes et les bactéries dans les environnements stressés. Plusieurs études ont rapporté que les extraits d'algues par leur composition en solutés compatibles tels que les bêtaïnes, les acides aminés et le diméthyl-sulfonio-propionate (DMSP) apportent une osmoprotection significative aux plantes et aux bactéries rhizosphériques dans les conditions du stress.

L'accumulation de solutés compatibles par l'absorption à partir du milieu est préférable à la biosynthèse car l'absorption est énergiquement moins coûteuse que la biosynthèse (Imhoff, 1986).

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 3 mois (Mars-Mai 2019). Elles ont été divisées en deux grandes parties :

- ✓ La première étape comporte les différents tests d'activité biologique des extraits d'algues de *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis*. (activité antifongique, antibactérienne et anti-oxydantes)
- ✓ La seconde partie comporte l'ensemble des tests visant l'étude des effets de l'extrait d'algue marine *Cystoseira* sp. sur la restauration de la croissance de l'orge cultivée en conditions normales et sous stress salin.

### 1. Collecte des algues

La collecte des algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* est effectuée par l'équipe du laboratoire de Maitrise 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) (Fig. 2).



**Figure 2 :** Site de prélèvement des échantillons d'algues marines

### 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 (Fig. 3), cette dernière est tamisée à l'aide d'un tamis de 2  $\mu\text{m}$ , puis conservée dans des pots en verre fumé.



**Figure 3 :** Aspect de la poudre des deux algues

## **Partie I: Activité antifongique, antibactérienne et anti-oxydante des extraits d'algues (*Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*)**

### **1. Préparation des extraits d'algues**

#### **1.1. Préparation des extraits aqueux**

10g de poudre de chaque algue (*Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*) sont homogénéisés avec 100ml d'eau distillée. Des dilutions (20% et 50%) sont préparées et les solutions sont autoclavées à 110°C/20min puis laissées au repos, les extraits sont centrifugés à 10000tr/10min. Enfin les surnageants sont récupérés dans des flacons fumés puis conservés à 4°C.

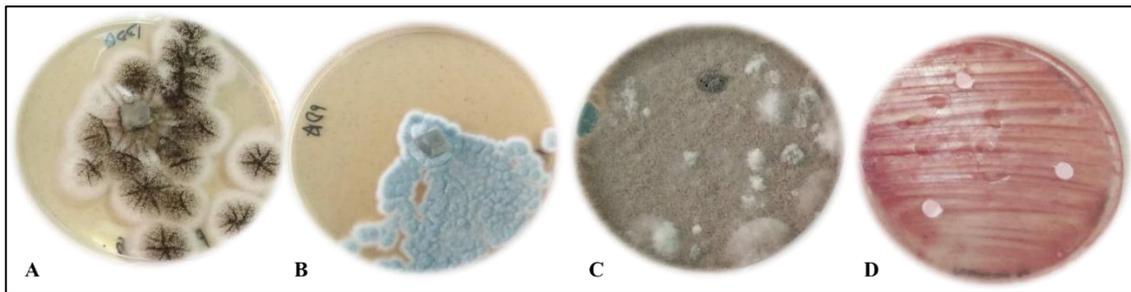
#### **1.2. Préparation des extraits éthanoliques**

10g de poudre d'algue (*Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*) sont macérés dans 100ml de l'éthanol. Après une extraction de 24h à température ambiante et sous agitation, une filtration est effectuée avec du papier wattman. Le filtrat obtenu est évaporé à sec à une température de 40°C, l'extrait est récupéré par le Diméthylsulfoxyde (DMSO) puis conservé à l'obscurité à 4°C.

## 2. Activité antifongique

### 2.1. Les espèces fongiques

Quatre espèces de champignons phytopathogènes sont testées, il s'agit d'*Aspergillus niger*; *Botrytis cinerea* ; *Fusarium* sp. et *Penicillium* sp. (Fig.4). Ces champignons font partie de la collection du laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelable (LMER), 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 pendant 2 à 3 jours.



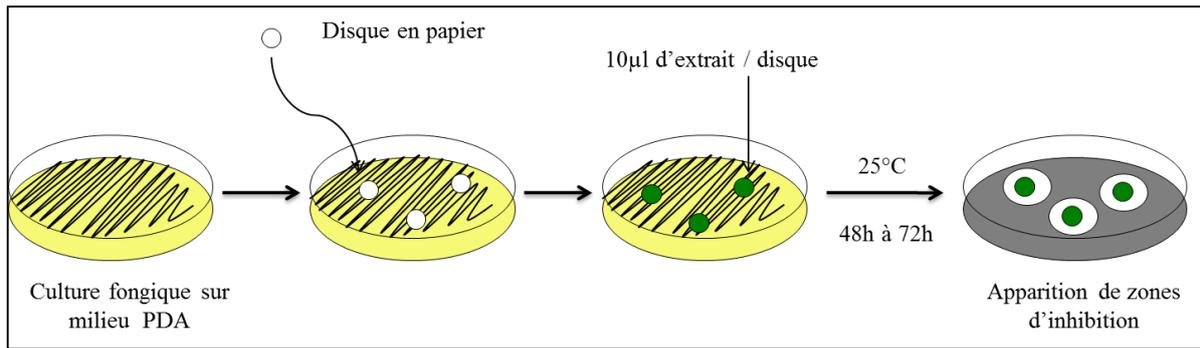
**Figure4 :** Les espèces fongiques testées

A : *Aspergillus niger* ; B : *Penicillium* sp. ; C : *Botrytis cinerea* ; D : *Fusarium* sp.

### 2.2. Test d'activité antifongique des extraits d'algues

L'activité antifongique des extraits est mise en évidence par la méthode de diffusion sur milieu solide (Vinod et al. 2010) en mesurant les diamètres des zones d'inhibition (Fig. 5). Le milieu de culture utilisé pour le test est le milieu PDA (Annexe I), 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.

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'extraits sont déposés à la surface des disques. Une solution de DMSO est utilisée comme témoin. Les boîtes sont mises à 4 °C/2 h, puis incubées à 25°C pendant 48 à 72h. Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés.

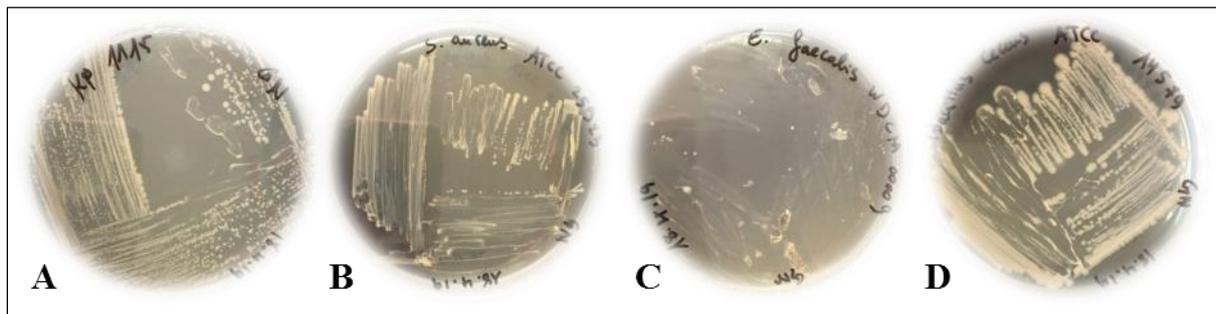


**Figure 5:** Mise en évidence de l'effet antifongique des extraits d'algues

### 3. Activité antibactérienne

#### 3.1. Les bactéries testées

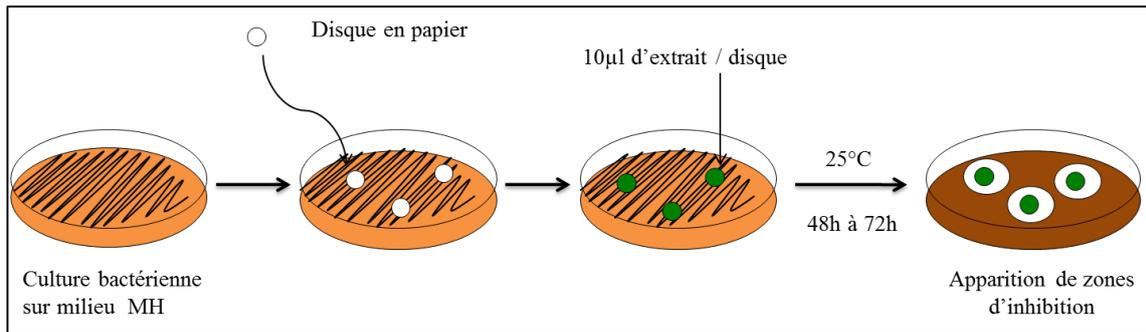
Quatre souches bactériennes sont testées, il s'agit d'*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae* (Fig.6). Ces souches font partie de la collection du laboratoire de Maitrise des Energies Renouvelable (LMER), équipe de Biomasse et Environnement de l'université de Bejaia. Des pécultures jeunes sont préparées par ensemencement des bactéries dans le bouillon nutritif (Annexe I) puis incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures.



**Figure6 :** Les bactéries testées A: *Klebsiella pneumoniae*; B: *Staphylococcus aureus* ; C : *Enterococcus faecalis* ; D: *Bacillus cereus*

#### 3.2. Test d'activité antibactérienne des extraits d'algues

L'activité antibactérienne des extraits est mise en évidence par la méthode de diffusion sur milieu solide (citée dans la section 2.2 ; Fig.7), sur milieu Muller-Hinton (Annexe I). Les boîtes sont mises à 4 °C/2 h, puis incubées. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition sont mesurés.



**Figure7** : Mise en évidence de l'effet antibactérien des extraits d'algue

#### 4. Test d'activité antioxydante des extraits d'algues

Les antioxydants sont des composés qui peuvent atténuer, inhiber ou prévenir l'oxydation des matières oxydables en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif (Kim et Lee., 2004).

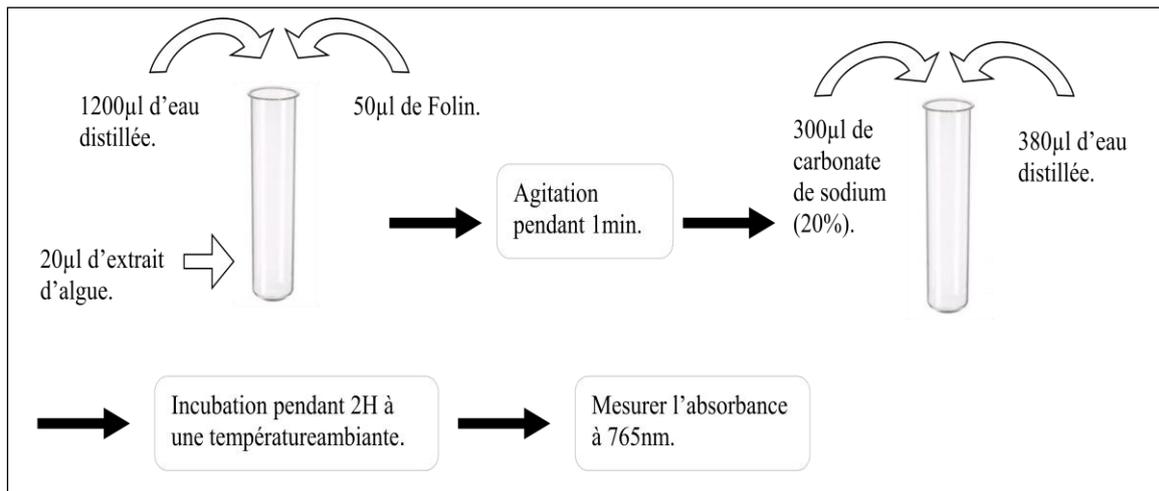
##### 4.1. Dosage des polyphénols

- **Principe**

Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction, le réactif de FolinCiocalteu, acide de couleur jaune, est utilisé comme oxydant, il est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Lors de l'oxydation des polyphénols, le Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) et ça en présence de carbonate de sodium. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu, donne un maximum d'absorption à 760 nm (Ribereau-Gayon, 1968).

- **Mode opératoire**

20 µl de chaque extraits d'algue sont homogénéisés avec 1200 µl d'eau distillée dans des tubes à essais, 50 µl du réactif de Folin-Ciocalteusont ajoutés aux mélanges et les tubes sont agités pendant 1min. Après l'addition de 300 µl de carbonate du sodium (20%) et 380 µl d'eau distillée, les tubes sont incubés pendant 2h à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée à 765nm. La figure ci-dessous résume les étapes suivies pour le dosage des polyphénols.



**Figure 8** : Schéma illustrant les différentes étapes du dosage des Polyphénols

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

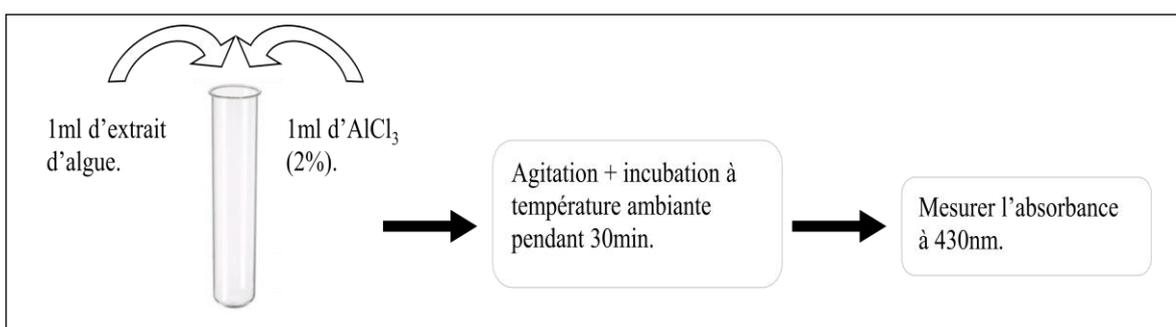
#### 4.2. Dosage des Flavonoïdes

- **Principe**

Le principe repose sur la formation d'un complexe jaunâtre, lors de l'ajout du chlorure d'aluminium et qui est le résultat de 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**

1 ml de chaque extrait d'algue (extrait aqueux et éthanoliques) est ajouté à 1 ml d' $AlCl_3$  (2%). Le mélange est agité puis incubé à l'abri de la lumière à une température ambiante pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 430 nm (fig.9).



**Figure 9** : Schéma illustrant les différentes étapes du dosage des Flavonoïdes

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 EqQ/g MS) (Kosalec et al., 2004).

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

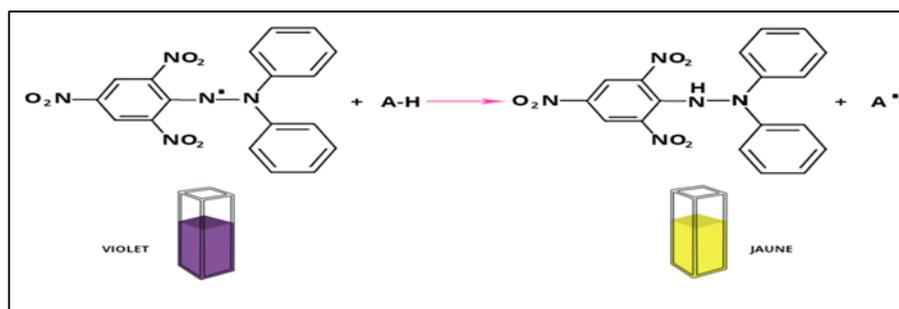
#### 4.3. Mesure de l'activité anti-oxydante

Les propriétés anti-radicalaires des extraits d'algues 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**

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un effet scavenger sur le radical libre DPPH• (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). Le radical DPPH• est réduit en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Fig. 10), lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 517 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antiradicalaire (Milardovic et al., 2006).

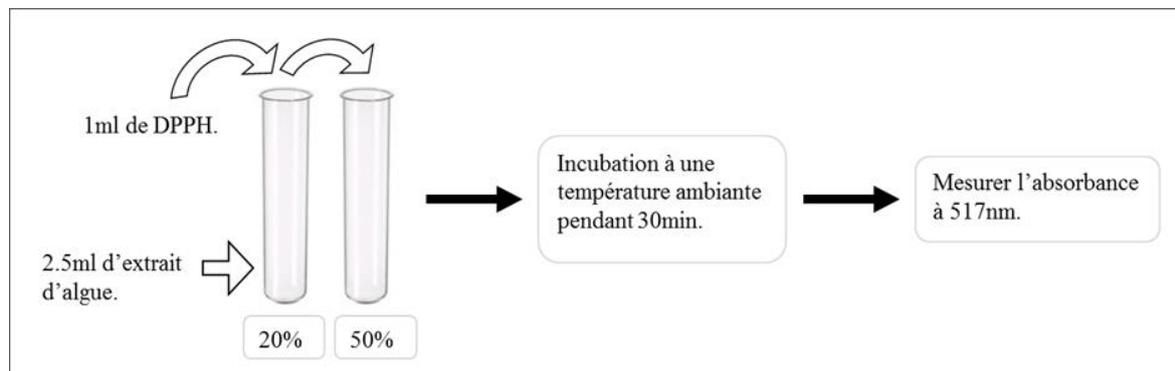


**Figure10** : Réduction du radical DPPH par un antioxydant.

- **Mode opératoire (Lopez-Lutz et al.2008)**

1 ml de DPPH est ajouté à 2.5ml de chaque extrait. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm (fig. 11). L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition de radical DPPH, et calculée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left( \frac{\text{AbsTémoin} - \text{Abséchantillon}}{\text{AbsTémoin}} \right) \times 100$$



**Figure 11:** Schéma illustrant les différentes étapes de la mesure de DPPH

#### 4.3.2. Pouvoir réducteur

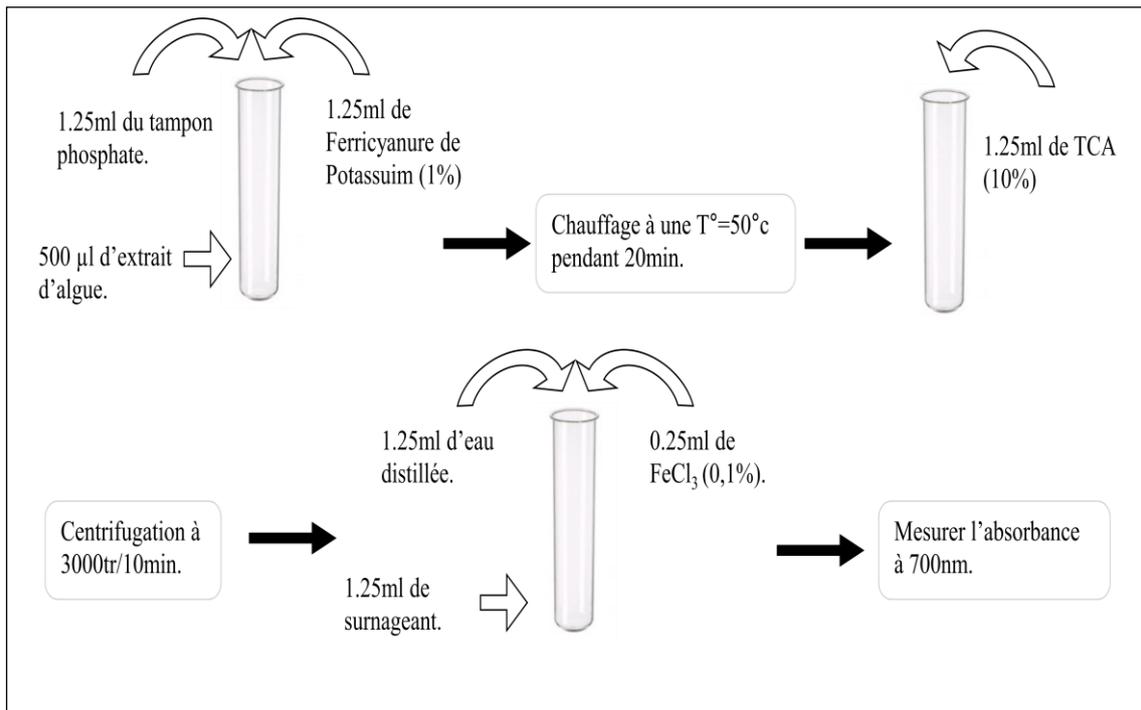
- **Principe**

Ce pouvoir mesure la capacité d'un antioxydant à réduire le fer ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  ( $\text{FeCl}_3$ ) en fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$  ( $\text{FeCl}_2$ ) en présence d'un agent chromogène, le ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ]. Ceci se traduit par le virage de la couleur jaune de ferricyanure de potassium vers une couleur bleu verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de l'antioxydant. Ce complexe est quantifié par mesure de l'absorbance à 700 nm (Chou et al., 2003).

- **Mode opératoire**

500  $\mu\text{l}$  d'extrait sont mélangés avec 1,25 ml du tampon phosphate et 1,25 ml de ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] à (1%). Le mélange est mis dans un bain marie à 50°C pendant 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 ( $\text{FeCl}_3$ ) à 0,1 %. 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 sur la base de l'acide ascorbique comme étalon. La figure ci-dessous montre les étapes suivies pour le dosage de cette activité.



**Figure 12 :** Schéma illustrant les différentes étapes de la mesure du Pouvoir réducteur

## **Partie II : effets de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la restauration de la germination et la croissance de l'orge cultivé sous stress salin**

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

### **1. Préparation des extraits d'algues**

10 g de la poudre d'algue de *Cystoseira* sp. sont homogénéisés avec 100 ml d'eau distillée. L'extrait est considéré concentré à 100% et des dilutions de 50% et de 20% sont préparées afin de tester l'effet des deux concentrations sur les différents paramètres de croissance des petits- pois. Les suspensions sont autoclavées à 110°C/20min puis laissée au repos, le surnageant est récupéré dans des flacons puis conservé à 4°C, afin de tester l'effet des deux concentrations sur les différents paramètres de croissance de l'orge.

### **2. Effet des extraits d'algue sur la restauration de la germination et de la croissance de l'orge 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.

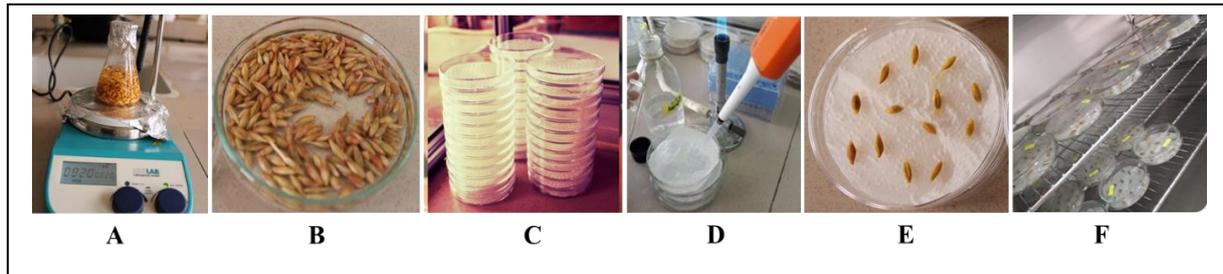
#### **2.1. Désinfection de la surface des graines**

Les graines de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) sont trempées dans l'éthanol (70%) pendant 1min sous agitation ensuite, elles sont retirées et trempées dans une solution d'hypochlorite du sodium (Eau de Javel) à 12% pendant 15 min. Ces graines sont lavées avec de l'eau distillée stérile 5 à 6 pour se débarrasser du chlore (Götz et al. 2006).

#### **2.2. Protocole expérimental**

Des disques en papier absorbant d'un même diamètre que celui des boîtes de Pétri sont préparés et stérilisés au four Pasteur à 180°C pendant 30 min puis placés dans les boîtes de Pétri. Ces disques sont imbibés avec de l'eau de robinet (pour le Témoin) ou d'une solution salée de (50 mM ; 100 mM ; 150 mM ; 200 mM ; 250 mM ; 300 mM ; 350 mM et 400 mM) à raison de 3ml/boîte. Les graines d'orge désinfectées sont trempées dans l'eau de robinet stérile pendant 1 h à une température ambiante, par la suite elles sont déposées dans les boîtes

de Pétri à raison de 13 graines/boîtes (Fig. 13). Cette expérience est réalisée à l'obscurité à une température 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 et la concentration de NaCl qui cause le stress dans chaque boîte sont déterminés.

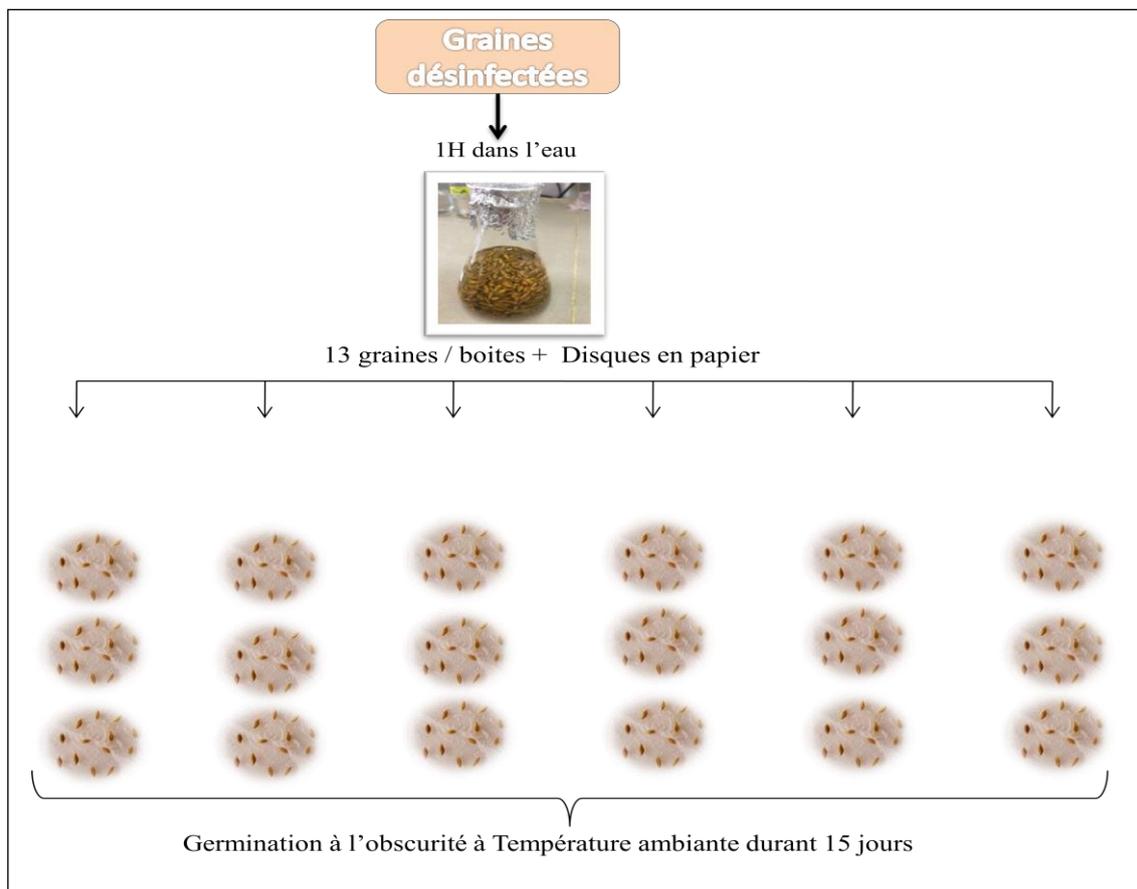


**Figure 13** : Les différentes étapes du test d'halotolérance des graines d'orge

**A** : Désinfection des graines d'orge ; **B** : Immerger les graines dans l'eau ; **C** ; **D et E** : Préparation des boîtes de pétri, tapissées avec du papier stériles et imbibé + les graines ; **F** : Incubation à température ambiante

### **2.3.Effet des extraits d'algues *Cystoseira* sp. sur la germination des graines de l'orge sous stress salin**

Après la détermination de 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 (2.2). Dans ce test, les disques sont imbibés avec de l'eau de robinet (Témoin), la solution saline 350 mM, les extraits d'algue 20% et 50% et les extraits avec la solution saline (Cys 20%/350 mM, Cys 50%/350Mm) (fig. 14). 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 14** : schéma illustrant les différentes étapes du test de germination sous stress salin

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

Après l'incubation des graines désinfectées pendant 2 jours et l'apparition de l'embryon de la cuticule, les graines sont semées. Chaque expérience est réalisée en 8 pots, les graines sont plantées à raison de 3 graines par pot à une profondeur de 1 cm (Fig. 15).

Six expériences sont effectuées :

**Expérience 1** : Témoin, graines semées dans le sol et arrosées avec de l'eau de robinet (10ml / pot).

**Expérience 2**: Graines semées dans un sol salin

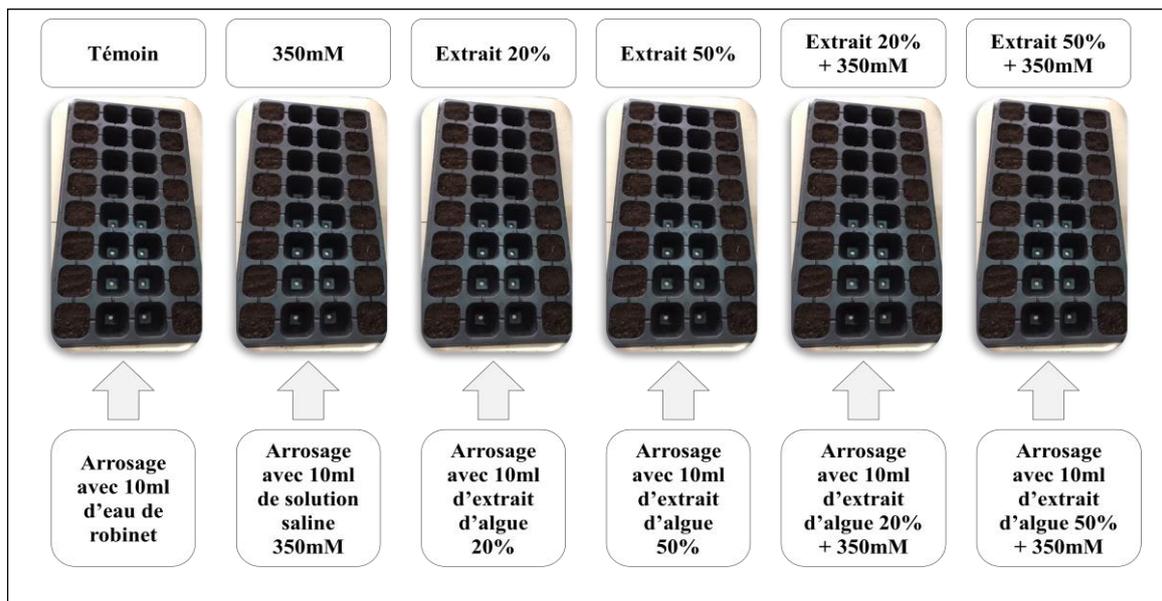
**Expérience 3** : Graines semées dans le sol et arrosées avec l'extrait de Cys 20% (5ml d'extrait + 5ml d'eau de robinet / pot).

**Expérience 4** : Graines semées dans le sol et arrosées avec l'extrait de Cys 50% (5ml d'extrait + 5ml d'eau de robinet / pot).

**Expérience 5** : Graines semées dans un sol salin et arrosées avec l'extrait de Cys 20% (5ml d'extrait + 5ml d'eau de robinet / pot).

**Expérience 6 :** Graines semées dans un sol salin et arrosées avec l'extrait de Cys 50% (5ml d'extrait + 5ml d'eau de robinet / pot).

L'expérience est réalisée dans des conditions naturelles à température 18-27°C pendant 25 jours. Les paramètres : longueur, poids frais, poids sec des tiges et des racines ainsi que la teneur en chlorophylle a, b et totale sont mesurés.



**Figure 15 :** Schéma illustrant les différentes étapes du test de croissance d'orge sous stress salin

### 2.5. 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 enregistré 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).

$$\text{Chl a (g/l)} = 0.0127 \times A_{663} - 0.00269 \times A_{645};$$

$$\text{Chl b (g/l)} = 0.0229 \times A_{645} - 0.00468 \times A_{663};$$

$$\text{Chl totale (g/l)} = 0.0202 \times A_{645} + 0.00802 \times A_{663}.$$

**2.6. 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 MANOVA sont appliqués ( $p < 0.05$ ).

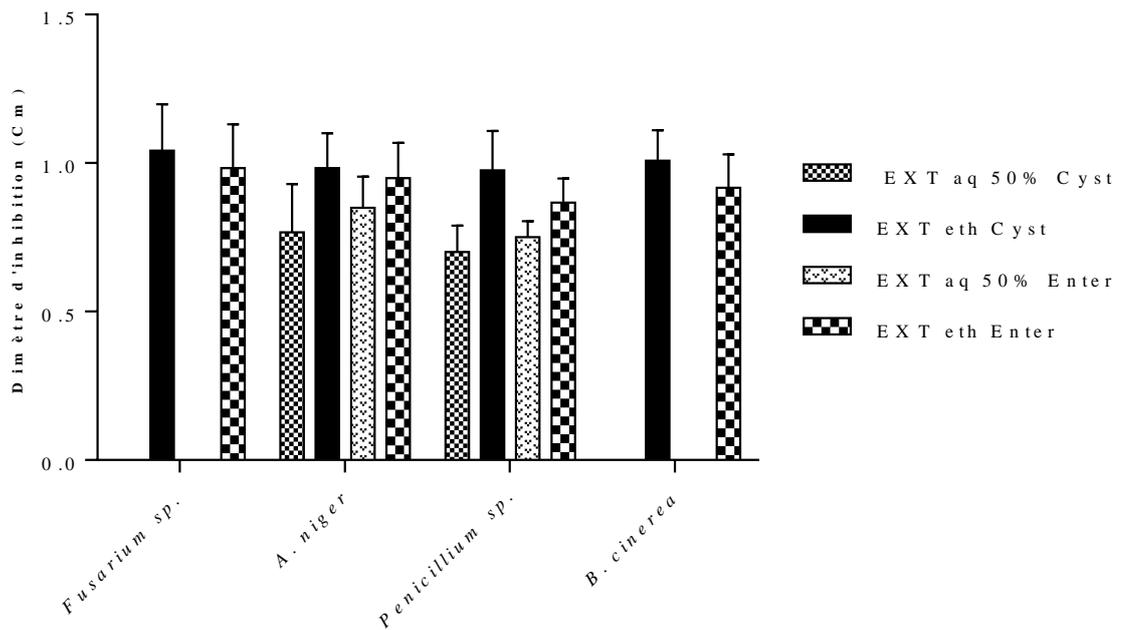
La cote Algérienne renferme une diversité d'espèces importantes d'algues marines, cependant il n'y a que peu d'étude sur leurs propriétés antibiotiques et bio-stimulantes. Afin d'évaluer les potentialités bioactives des algues de la côte ouest de la wilaya de Bejaia (Algérie), l'évaluation des activités biologiques et de l'effet biostimulant et osmoprotecteur de l'orge cultivé sous stress salin a été réalisée pour valoriser cette ressource.

## **Partie I : Activité antifongique, antibactérienne et antioxydante des extraits d'algues (*Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis*)**

### **1. Activité antifongique et antibactérienne des extraits d'algues**

Dans cette étude, la méthode de diffusion sur milieu gélosé est utilisée pour étudier l'activité antifongique et antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques de deux espèces d'algues marines (*Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis*). Tous les extraits sont testés *vis-à-vis* de quatre champignons (*Aspergillus brasiliensis*; *Botrytis cinerea* ; *Fusarium* sp. et *Penicillium* sp.) et quatre bactéries (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae*). L'étude de cette activité antifongique des extraits testés repose sur le calcul des diamètres des zones d'inhibition de la croissance mycélienne.

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



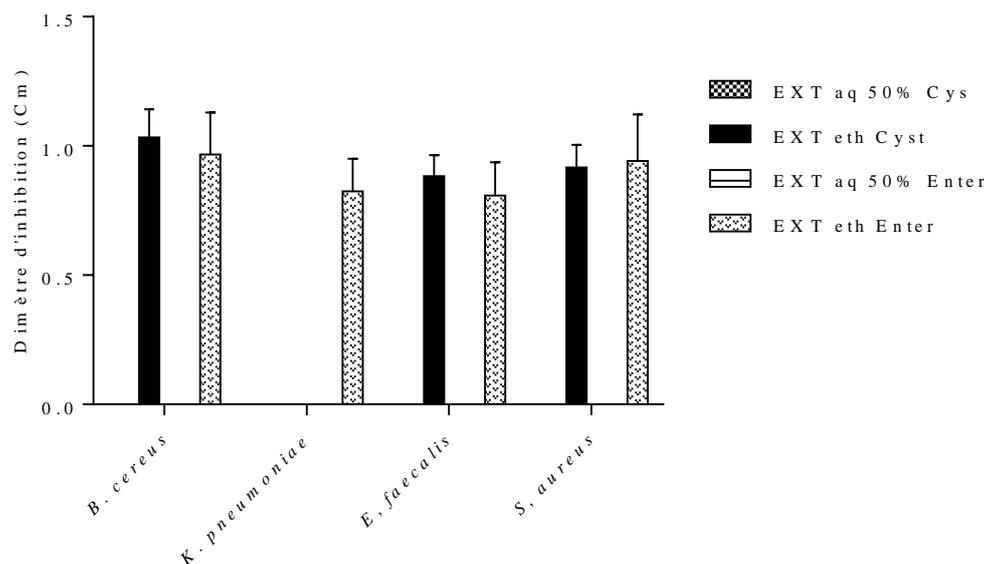
**Figure16:** Valeur des diamètres des zones d’inhibition de la croissance des espèces fongiques par les extraits d’algues

EXT aq Cyst : Extrait aqueux de *Cystoseira sp.* ; EXT eth Cys : Extrait éthanologique de *Cystoseira sp.* ; EXT aq Enter : Extrait aqueux d’*Enteromorpha* ; EXT eth Enter : Extrait éthanologique d’*Enteromorpha*

Selon les résultats, on constate que les extraits éthanologiques des deux espèces d’algues (*Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*) sont les plus actifs sur tous les champignons testés avec des diamètres d’inhibition compris entre 0.98 cm et 1.04 cm pour *Cystoseira sp.* et 0.86 et 0.98 cm pour *Enteromorpha intestinalis*.

Les extraits aqueux autoclavés ont inhibés modérément la croissance de deux champignons uniquement. L’extrait aqueux de *Cystoseira sp.* a inhibé 0.76 cm et 0.7 cm de la croissance mycélienne de *A. niger* et de *Penicillium sp.* respectivement, quant à l’extrait d’*Enteromorpha intestinalis*, des diamètres respectifs de 0.85 cm et 0.75 cm sont obtenus sur *A. niger* et de *Penicillium sp.*

Après 24 heures d’incubation, les diamètres d’inhibition de la croissance bactérienne sont mesurés. Le graph ci-dessous représente les valeurs des différents diamètres des zones d’inhibition des bactéries testées obtenues en présence des extraits d’algues.



**Figure17:** Valeurs des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits d'algues

EXT aq Cyst : Extrait aqueux de *Cystoseira sp.* ; EXT eth Cys : Extrait éthanologique de *Cystoseira sp.* ; EXT aq Enter : Extrait aqueux d'*Enteromorpha* ; EXT eth Enter : Extrait éthanologique d'*Enteromorpha*.

L'extrait éthanologique de l'algue *Enteromorpha intestinalis* a montré une activité sur toutes les bactéries testées avec des diamètres qui varient entre 0.8 cm et 0.96 cm. L'extrait éthanologique de *Cystoseira sp.* s'est montré actif sur trois des bactéries testées (*B. cereus*, *E. faecalis* et *S. aureus*). Les extraits aqueux des deux espèces n'ont exercé aucune activité inhibitrice sur les quatre bactéries testées.

L'activité antibactérienne et antifongique s'explique par les propriétés antibactériennes que possèdent certains métabolites secondaires notamment ceux des algues marines. En effet, les macro-algues marines riches en substances à potentiel antimicrobien inhibent la croissance de certaines bactéries et champignons (Sukataretal., 2006).

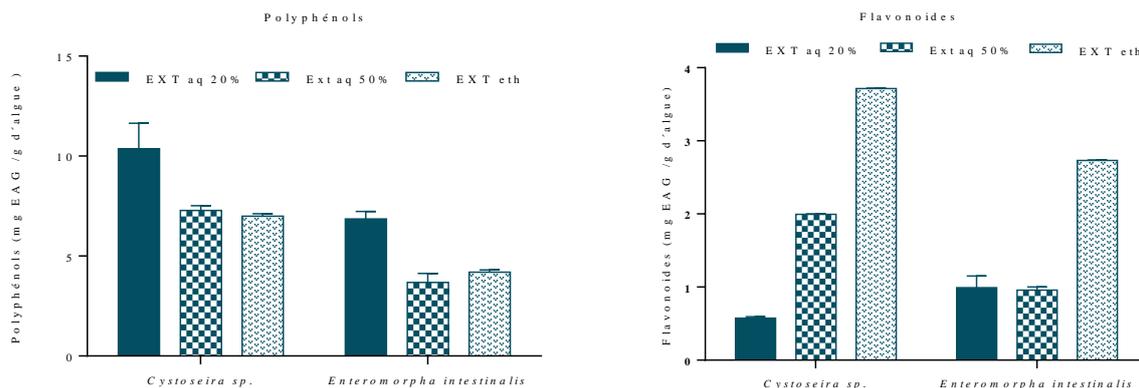
L'action inhibitrice la plus forte a été enregistrée par les extraits éthanologiques, ces résultats pourraient être expliqués par le fait que ce solvant (éthanol) permette une meilleure extraction des substances ayant un effet inhibiteur. Kumar et al. (2014) ont rapporté que l'effet inhibiteur le plus important de *Penicillium janthinellum* et d'*Aspergillus niger* est obtenu avec les extraits éthanologiques des algues brunes. Les tests antifongiques réalisés avec des extraits d'algue brune induisent une inhibition remarquable de certains champignons comme *Aspergillus sp.* (Moreau, 1984). Khallil et al. (2015) ont révélé que les extraits de *Cystoseira*

présentent une forte activité inhibitrice d'*Alternaria* sp. et d'*Aspergillus niger*. (Reichelt et Borowitzka, 1983) ont montré que les ulves ont des effets antimicrobiens sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. (Kumar et Rengasany, 2000, et Elkouri et al., 2004) ont exhibé que les extraits d'*Enteromorpha* ont une activité inhibitrice vis-à-vis des plusieurs espèces bactérienne sauf la souche d'*Escherichia coli*.

Les extraits d'algues ont une activité inhibitrice vis-à-vis des champignons et des bactéries, les effets inhibiteurs de ces extraits sont probablement dus aux teneurs élevées en composés phénoliques dont les algues sont riches. L'absence d'inhibition observée sur les bactéries et les champignons testées avec les extraits aqueux autoclavés est peut être due à une résistance naturelle de ces espèces ou au solvant d'extraction. En effet, les méthodes expérimentales et le type du 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 peut expliquer l'absence de l'activité antifongique, la méthode de séchage et de préparation des poudres d'algue qui peuvent influencer la composition des extraits en composés bioactifs (Le Lann, 2014).

## 2. Teneur en composés phénoliques

La teneur en composés phénoliques des extraits aqueux et éthanoliques des deux espèces d'algues marines (*Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis*) étudiées est obtenue à l'aide d'une gamme d'étalonnage établie avec différentes concentrations en acide gallique (polyphénols) et de Quercitine (flavonoïdes) (Annexe II). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique ou Quercitine par gramme d'algue (mg EAG/g d'algue). Le graphe suivant illustre les teneurs en composés phénoliques des extraits d'algue.



**Figure 18 :** Teneur en composés phénoliques des extraits d'algue

D'après ces résultats, les extraits de *Cystoseira sp.* sont plus riches en polyphénols et en flavonoïdes par rapport à l'algue verte *Enteromorpha intestinalis*.

Les valeurs des concentrations des flavonoïdes dans les extraits des deux espèces sont inférieures à celles des polyphénols dans les extraits éthanoliques et aqueux. 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.

Comparé aux extraits éthanoliques et aqueux 50%, les extraits aqueux (20%) des deux espèces d'algues *Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*, renferment le taux le plus élevé en polyphénols ( $10.37 \pm 1.2$  et  $6.86 \pm 0.37$  mg EAG/g d'algue). Cependant, pour les flavonoïdes les extraits éthanoliques des deux espèces d'algues brune et verte marquent le taux de flavonoïdes le plus élevé ( $3.7 \pm 0.007$  et  $2.7 \pm 0.08$  mg EQ/g d'algue). Par ailleurs, les extraits aqueux autoclavés d'*Enteromorpha intestinalis* (20% et 50%) présentent des taux relativement proches en flavonoïdes ( $0.99 \pm 0.15$  et  $0.95 \pm 0.04$  mg EQ/g d'algue), contrairement aux extraits aqueux de *Cystoseira sp.* ( $0.6 \pm 0.02$  et  $1.9 \pm 0.07$  mg EQ/g d'algue).

IL est connu que les composés phénoliques se répartissent dans les différents solvants en fonction de leur polarité (Calliste et al., 2001). Ces teneurs changent de façon considérable d'une espèce à une autre et à l'intérieur de la même espèce à cause des facteurs extrinsèques (température, climat...etc.), génétiques (la variété et l'origine d'espèces), physiologiques (le degré de maturation de la plante, les organes utilisés) et de la durée du stockage (Maisuthisakul et al., 2007; Ksouri et al., 2009).

Sabeena Farvin et Jacobsen (2013) ont trouvé que la valeur en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique de l'algue verte *Ulva lactuca* est de  $2.26 \pm 0.07$  mg EAG/g. Ces mêmes auteurs ont aussi constaté que les extraits éthanoliques de deux algues brunes *Fucus Senatus* et *fucus vesiculosus* présentent des teneurs respectivement en polyphénols totaux de  $12 \pm 0.09$  mg EAG/g d'algue et 10.45 mg EAG/g d'algue. Au regard de ces données, l'extrait éthanolique de l'algue *Cystoseira* sp. peut être considérés comme riches en polyphénols.

D'après la littérature, il existe peu de travaux sur le contenu en flavonoïdes dans les algues marines (Zeng et al., 2001 ; Meenakshi and Gnanambigai, 2009; Sava and Sirbu, 2010) mais, il est rapporté que les algues vertes contiennent des teneurs variant entre 8.43 et 33.39 mg/gMS et entre 20,72 et 32,89 mg/g MS pour les algues brunes. Par ailleurs, il est bien démontré que les teneurs en flavonoïdes dans les algues marines varient pour plusieurs raisons: l'espèce, la saison et d'autres conditions géographiques (Sarjini et al., 2012).

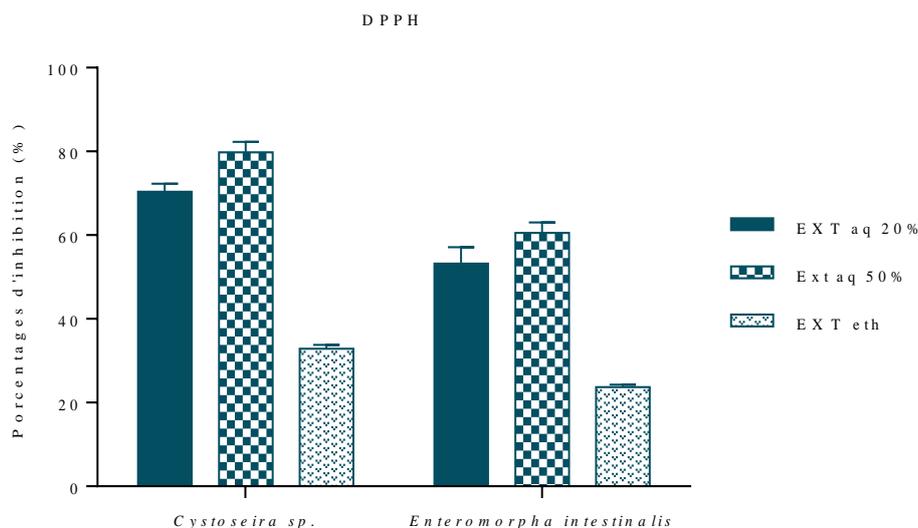
### 3. Activité antioxydante

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante des composés purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel (Neghraoui, 2012).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits des deux algues est testée selon deux méthodes : le test de piégeage du radical (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. La figure ci-dessous présente les pourcentages de réduction du radical DPPH• par les extraits des deux espèces testés.



**Figure 19:** Les pourcentages de réduction du radical DPPH· par les extraits d’algues

A la lumière de ces résultats, on constate que l’extrait de *Cystoseira sp.* présente un effet antiradicalaire plus important par rapport à l’extrait d’algue verte *Enteromorpha intestinalis*.

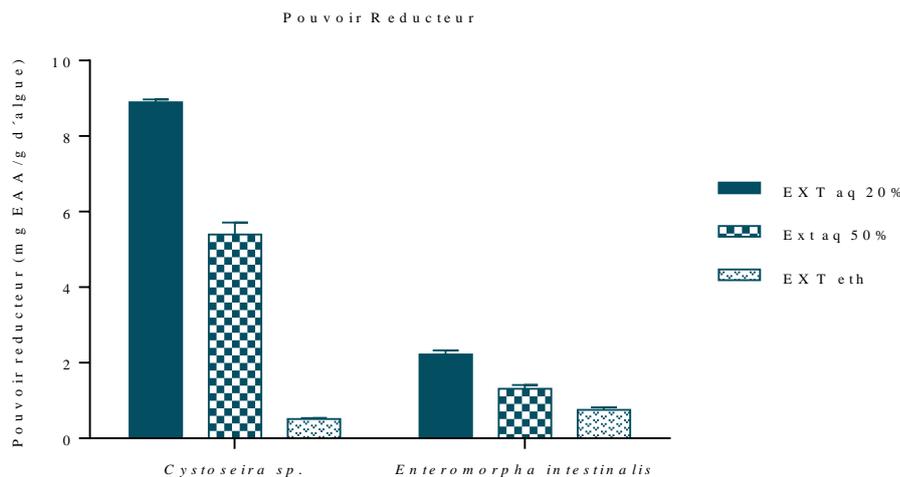
Une augmentation de l’activité antiradicalaire proportionnelle à l’augmentation de la concentration des extraits a été notée. A forte concentration (50 %), les extraits aqueux des deux espèces assurent des pourcentages de réduction du DPPH plus élevés qui atteint 79% pour l’espèce *Cystoseira sp.* et 60,5% pour *Enteromorpha intestinalis*. Pour les extraits aqueux de 20%, le pourcentage de réduction du DPPH· pour les extraits aqueux est d’environ de 70.41% pour *Cystoseira* et 53.18% pour *Enteromorpha intestinalis*.

Quant aux extraits éthanoliques de *Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis*, ils présentent un faible pourcentage de réduction du DPPH; 3.58% et 3.22%, respectivement.

### 3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur d’un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ).

La figure ci-dessous présente la capacité réductrice des extraits des deux espèces d’algues.



**Figure 20 :** La capacité réductrice des extraits d'algues

Les résultats obtenus montrent que le pouvoir réducteur le plus élevé est enregistré chez les extraits de *Cystoseira sp.*

Les extraits aqueux (20%) des deux espèces d'algues *Cystoseira sp.* et *Enteromorpha intestinalis* exhibent la meilleure activité ( $8.9 \pm 0.07$  et  $2.2 \pm 0.1$  mg EAA/g d'algue) par rapport aux extraits 50% ( $5.4 \pm 0.3$  et  $1.3 \pm 0.09$  mg EAA/g d'algue).

Les extraits éthanoliques de *Cystoseira* et *Enteromorpha*, ont présenté des valeurs faibles qui ne dépassent pas  $0.5 \pm 0.02$  et  $0.75 \pm 0.07$  mg EAA/g d'algue, respectivement.

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de ces variations de concentrations, elles pourraient être dues au type du solvant ou aux composés bioactifs contenus dans les algues.

La comparaison de l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques dans des extraits de quelques espèces de microalgues ont établi une corrélation entre la teneur élevée en composés phénoliques et la capacité antioxydante (Jaime et coll., 2005; Geetha et coll., 2010; Hajimahmoodi et al., 2010).

D'après Bougandoura et Bendimerad (2012), le pouvoir réducteur des extraits de plantes est dû 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 des inactivateurs des oxydants.

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 (Yildiz, 2012). Il convient de souligner que les caroténoïdes représentent une classe importante d'antioxydants issus des microalgues et contribuent de manière significative

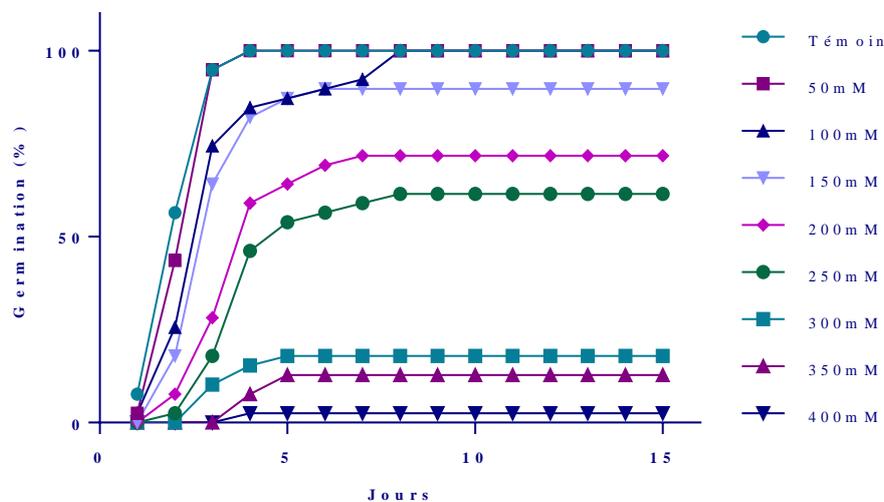
à la capacité antioxydante totale des organismes (Jahnke, 1999; Takaichi, 2011). Elles jouent un rôle important dans le piégeage des espèces réactives de l'oxygène générées lors de la photosynthèse. L'activité antioxydante de ces molécules est liée à leur longue chaîne polyénique qui leur permet de réagir avec les radicaux peroxyde (ROO•), hydroxyle (HO•) ou superoxyde (O<sub>2</sub>•-) par simple addition électrophile et transfert d'électron. Ils permettent, en particulier, de neutraliser l'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) (Valko et al., 2006).

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

La salinité des sols constitue l'un des principaux stress abiotiques limitant la croissance des plantes cultivées et la productivité végétale (Epstein et al., 1980; Boyer et al., 1982; Tanji et al., 1990; Abdelly et al., 2008; Munns et Tester, 2008) et menaçant l'équilibre alimentaire mondial (Kinet et al., 1999). En plus de leurs activités antimicrobiennes, les algues et leurs extraits peuvent promouvoir la croissance et la santé des plantes et améliorer la tolérance des cultures au stress abiotiques (Nabti et al., 2007 ; Battacharyya et al., 2015 ; Du Jardin, 2015).

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

Les valeurs de germination des graines de l'orge en présence des concentrations croissantes en NaCl sont illustrées dans le graphe suivant.



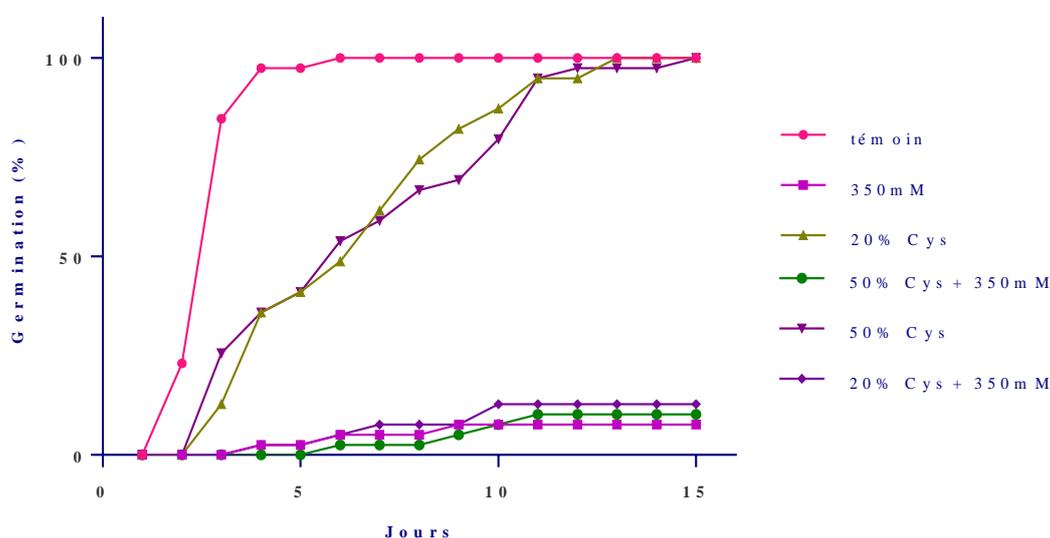
**Figure 21** : Pourcentage de germination des graines d'orge sous stress salin

D'après ces résultats, les concentrations 50 et 100 mM ont permis d'avoir des valeurs proches de ceux de témoin. A partir de la concentration 200 mM, l'effet inhibiteur de NaCl commence à apparaître. Comparé au témoin, les deux concentrations 200 mM et 250 mM ont permis la germination d'uniquement 70% et 60% de graine de l'orge, respectivement. Les autres concentrations (300mM, 350mM et 400mM) ont affecté considérablement ce paramètre

(18%, 13% et 2.6%). 350 mM est la concentration en NaCl choisie pour vérifier l'effet de l'extrait *Cystoseira* sp. sur la restauration de la croissance de l'orge.

## 2. Effet de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la germination des graines d'orge sous stress salin

Les résultats du pourcentage de germination des graines de l'orge sous stress salin en présence et en absence des extraits de *Cystoseira* sp. (20% et 50%) sont présentés dans le graphe suivant.

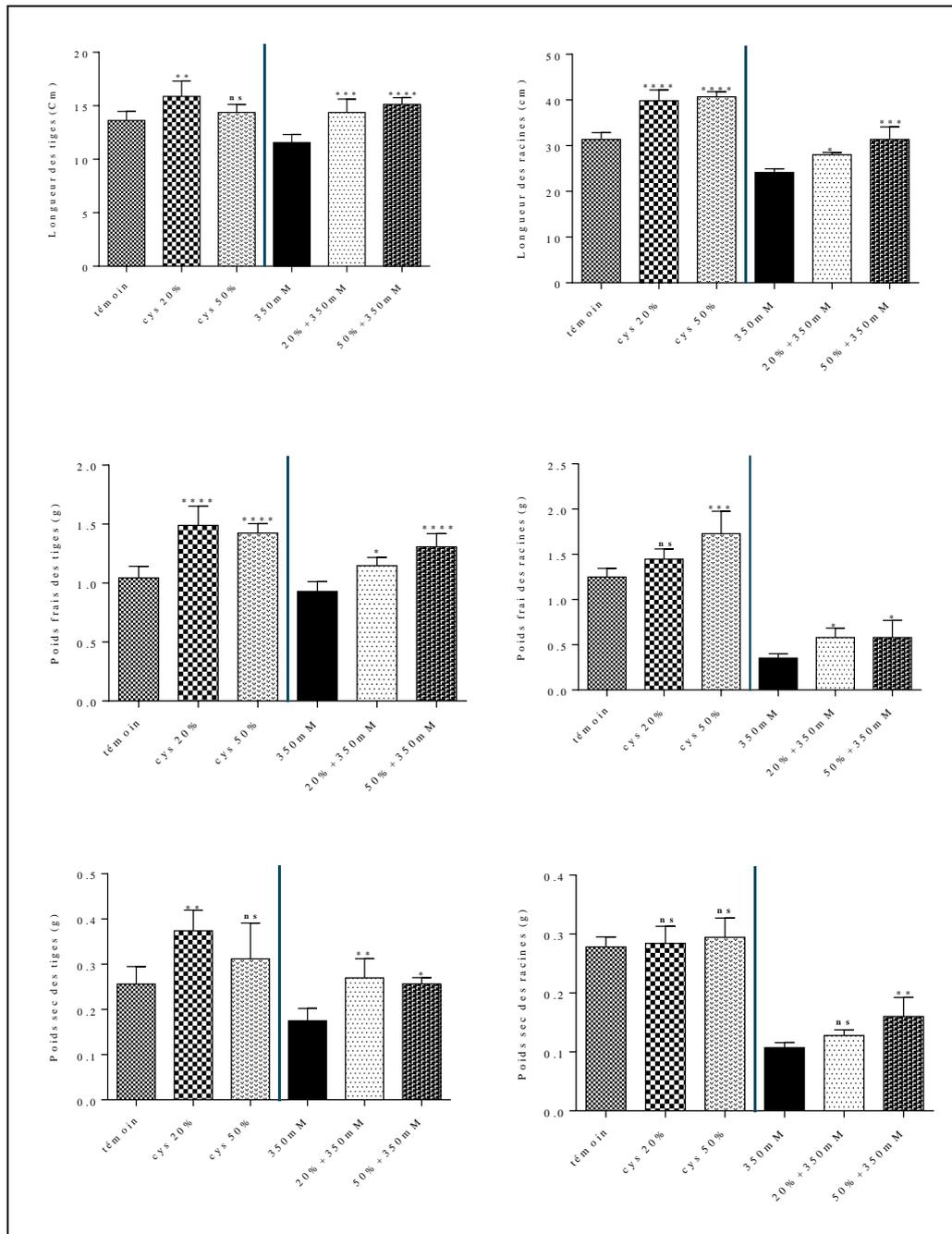


**Figure 22 :** Pourcentage de germination des graines d'orge sous stress salin en présence des extraits d'algue *Cystoseira* sp.

On note bien qu'aucun des traitements d'extrait d'algues n'a amélioré la germination des graines d'orge. Cette dernière est similaire à celle du témoin à partir du 13<sup>ème</sup> jour aux concentrations (Cys 20% et Cys 50%). Le stress salin appliqué a significativement affecté la germination des graines, même en présence des extraits d'algues (Cys 20%+ 350mM et Cys 50%+ 350mM).

### 3. Effet de l'extrait d'algue *Cystoseira* sp. sur la croissance des graines d'orge sous stress salin

Les valeurs des paramètres de la croissance de l'orge cultivée sous stress salin (350 mM) traitée ou non avec les deux concentrations d'extrait d'algue *Cystoseira* sp. (20% et 50%) sont présentées dans les graphiques suivants :



**Figure 23 :** Effet des extraits de *Cystoseira* sp. sur la restauration des différents paramètres de croissance de l'orge en présence et en absence du stress salin

Les résultats de mesure des différents paramètres de la croissance végétale montre que les deux concentrations d'algues (20% et 50%) ont stimulé considérablement tous les paramètres de la croissance de l'orge : longueur des tiges ( $15.87 \pm 1.12 \text{ cm}$  ;  $14.37 \pm 0.62 \text{ cm}$ ), longueur des racines ( $39.83 \pm 1.77 \text{ cm}$  ;  $40.66 \pm 0.88 \text{ cm}$ ), poids frais des tiges ( $1.49 \pm 0.11 \text{ g}$  ;  $1.42 \pm 0.06 \text{ g}$ ), poids frais des racines ( $1.45 \pm 0.08 \text{ g}$  ;  $1.73 \pm 0.18 \text{ g}$ ) ainsi que le poids sec des tiges ( $0.37 \pm 0.03 \text{ g}$  ;  $0.31 \pm 0.05 \text{ g}$ ) et des racines ( $0.28 \pm 0.02 \text{ g}$  ;  $0.29 \pm 0.02 \text{ g}$ ) comparés au témoin non traité ( $13.62 \pm 0.62 \text{ cm}$  ;  $31.33 \pm 1.11 \text{ cm}$  ;  $1.04 \pm 0.08 \text{ g}$  et  $1.25 \pm 0.06 \text{ g}$  ;  $0.26 \pm 0.03 \text{ g}$  ;  $0.28 \pm 0.01 \text{ g}$ , respectivement).

La présence du sel dans les solutions d'irrigation a affecté considérablement tous les paramètres de croissance. L'ajout de l'extrait d'algues (20% et 50%) dans le sol, a permis de restaurer significativement la croissance de tous les paramètres mesurés.

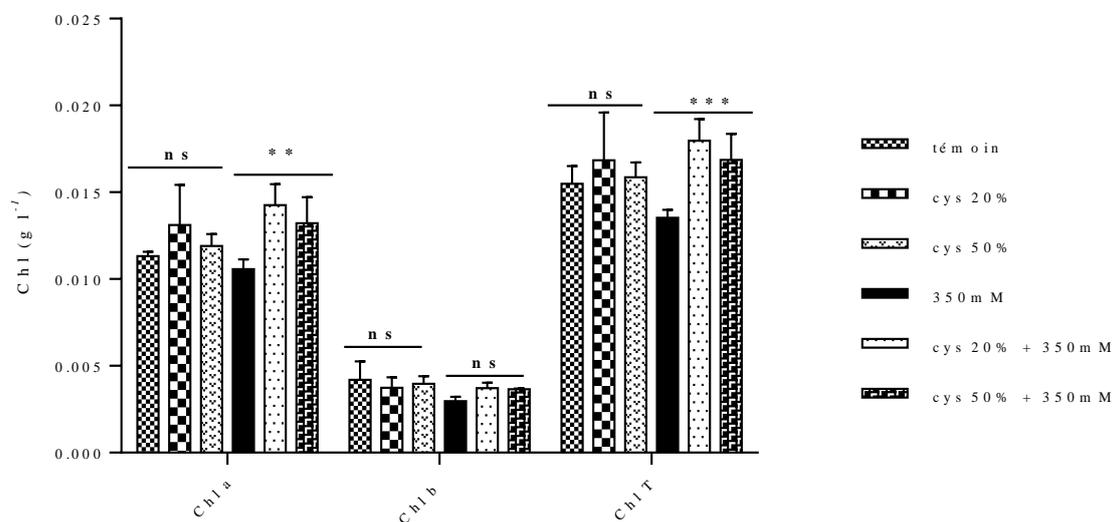
Selon Neumann, (1995), le degré de sensibilité au stress salin dépend du stade végétatif au cours duquel la plante subit le stress. Chez certaines espèces, c'est le stade juvénile qui est le plus sensible, alors que chez d'autres espèces, c'est le stade adulte qui est le plus sensible. Ainsi par exemple l'orge, le blé, la betterave et le tournesol se montrent plus sensibles au stade juvénile qu'au stade adulte (Greenway, 1980 ; Munns et al. 2006). 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) ont mentionné 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. Amira et al., (2014) ont rapporté que les extraits d'algues peuvent diminuer complètement l'effet agressif du stress salin de faible concentration et partiellement l'effet d'un stress de forte concentration.

Sivasankari et al., (2006) découvrent quant à eux une augmentation du pourcentage de germination pour des graines de vigne soumises à des extraits de *Caulerpa chemnitzia* 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. Kumar et Sahoo, (2011) ont souligné que la dilution 20% d'extrait de *Sargassum wightii* stimulé de manière significative la germination des graines de blé *Triticum aestivum*.

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

Le NaCl affecte la photosynthèse et par conséquent réduit la croissance et la production végétale. Dans cette 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.



**Figure 24 :** Quantités de chlorophylle a, b et totale de l'orge cultivé sous stress salin en présence des différentes concentrations d'extrait d'algue *Cystoseira* sp.

Les deux concentrations d'algues sous stress salin (Cys 20%+ 350mM et Cys 50%+ 350mM) améliorent la teneur des plantules d'orge en chlorophylle a, b et totale comparée au stress (NaCl 350mM). En absence de ce dernier, les concentrations (Cys 20% et Cys 50%) stimulent significativement la quantité de la chlorophylle a et la chlorophylle totale.

La salinité réduit le contenu chlorophyllien, cette réduction est dépendante de l'intensité du stress et du degré de la 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<sup>-</sup> dans les tissus. De plus la salinité impose à la plante une réduction de l'absorption des ions essentiels tels que le K<sup>+</sup> et le Ca<sup>2+</sup>, ce qui provoque un déséquilibre ionique (Zhu, 2001).

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).

L'augmentation de la teneur en chlorophylle obtenue dans notre étude confirme les rapports de Bozorgi (2012) et Ramarajan et al. (2013) qui ont montré que l'application d'algues sur la plante d'haricot par pulvérisation foliaire ou par incorporation dans le milieu de culture augmente la pigmentation des feuilles et des tiges (notamment Chl a). D'après Sridhar et Rengasamy (2010), l'augmentation de la quantité de la chlorophylle totale et chlorophylle a dans les plantes traitées par les extraits d'algues est due à la composition d'algues en magnésium qui est un constituant important dans la chlorophylle.

## **Conclusion**

L'application des extraits d'algues comme biostimulant est l'une des alternatives prometteuses visant à améliorer le développement et la qualité des cultures dans des conditions normales ou stressantes. Cette présente investigation a permis d'en apprendre davantage sur les algues et leurs mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des cultures dans des conditions normales ou du stress.

Les résultats du dosage des composés phénoliques ont montré que les extraits des deux espèces d'algues *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* sont riches en polyphénols et flavonoïdes et présentent des activités anti-oxydantes intéressantes. Cependant, pour l'inhibition de la croissance microbienne, c'est les extraits éthanoliques qui se sont révélés plus actifs.

Le stress abiotique exercé par le NaCl (350 mM) a affecté significativement la croissance de tous les paramètres de croissance de l'orge. L'ajout des extraits d'algue a restauré tous les paramètres de croissance mesurés, cependant, sur la teneur en chlorophylle uniquement la chlorophylle a et totale sont améliorées.

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 s'impose comme une alternative prometteuse aux produits chimiques tant nuisible 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 ces extraits :

- Réaliser des tests d'antagonisme *in vivo*;
- Extraire, identifier et déterminer le mode d'action des molécules impliquées dans la lutte biologique et la stimulation de la croissance des plantes.
- Réaliser des tests de stimulation de la croissance sur champs.

Références bibliographiques

A

---

- Abdelly C., Öztürk M., Ashraf M. et Grignon C. (2008).** Biosaline Agriculture and High Salinity Tolerance. Springer Science & Business Media, Swizerland, 367 p.
- Agastian, P., Kingsley, S. J., et Vivekanandan, M. (2000).** Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. *Photosynthetica*, 38(2), 287-290.
- Alem M. (2015).** Les compléments alimentaires à base d'algues. Thèse de doctorat en Médecine et de pharmacie. Université Mohammed V. Rabat, Maroc.
- Almansouri, M., Kinet, J. M., et Lutts, S. (1999).** Compared effects of sudden and progressive impositions of salt stress in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Journal of plant physiology*, 154(5-6), 743-752.
- Al-Saif S. S. A. L., Abdel-Raouf N., El-Wazanani H.A., Aref I.H. (2014).** Antibacterial substances from algae isolated from Jeddah coast of Red sea, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 21, 57-64.
- 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, *Gesunde Pflanzen*. 67 : 21-31.
- 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.
- Arunachalam P., Uthandakalai R., et rajsmail R. (2014).** Evaluation of antibacterial activity of some selected green seaweeds extracts from Muttam coastal areas, Kanyaakumari, Tamil Nadu, India. suppl 2 : 112-115.
- Ashraf M. et McNeilly. T. (1988).** Variability in salt tolerance of nine spring wheat cultivars. *J. Agron. Crop. Sci*, 160: 14-21.
- Azevedo Neto, A. D., Gomes-Filho, E., & Prisco, J. T. (2008).** Salinity and oxidative stress. In: Khan N.A., Singh S. (Eds), *Abiotic stress and plant responses*. IK International, New Delhi, pp, 58-82.

### B

---

- Bartels D. et Nelson D. (1994).** Approaches to improve stress tolerance using molecular genetics. *Plant Cell Envir.* 17: 659-667.
- Battacharyya D., Babgohari M. Z., Rathor P. et Prithiviraj B. (2015).** Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. *Sci Hortic.* 196: 39-48.
- Belkhodja M., Bidai Y. (2004)** Réponse des graines d'*Atriplex halimus* à la salinité au stade de la germination. *Sécheresse*, 15(4):331-335.
- Bhagavaty S., Sumathi P., Jancy Sherene Bell I. (2011).** Green algae *Chlorococcum humicola* a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. *Asian pacific Journal of Tropical Biomedicine.* S1-S7.
- Bohnert H. J. et Shen B. (1999).** Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae.* 78: 237-260.
- Bougandoura N. et Bendimerad N. (2012).** Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques*, (9): 14-19.
- Boyer J.S. (1982).** Plant productivity and environment. *Science* 218: 443-448.
- 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 Environ.* 27: 917-928.

### C

---

- Calliste C.A., Trouillas P., Allais D.P., Simon A. et Duroux J.L. (2001).** Free radical scavenging activities measured by electron spin resonance spectroscopy and B16 cell antiproliferative behaviors of seven plants. *Journal of agricultural and food chemistry.* 49(7):3321-3327.
- 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., Oak J.H., Lee J.A., Shin J.A., Kim J.G., Park K.S. (2013).** Installing kelp forests/seaweed beds for mitigation and adaptation against global warming: Korean Project Overview. *ICES Journal of Marine Science*, 70: 1038-1044.
- 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.

**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. (2006).** Seaweed extract stimuli in plant medicinal. Edition technique et documentaire. P35.

**Critchley A.T., Craigie J.S., Norrie J. et Prithiviraj B. (2009).** Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28: 386–399.

### D

---

**Davis T.A., Volesky B. et Mucci A. (2003).** A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research*. 37, 4311-4330.

**Demoulain G. et Lymergie C. (2009).** Les algues, le trésor de la mer filière et nutrition diététique ; Haute Ecole de Santé Genève (HEDS).

**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.

**Devanya Rosaline X., Sakthivelkumar S., Rajendran K. et Janarthanan S. (2012).** Screening of selected marine algae from the coastal Tamil Nadu, south India for antibacterial activity. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, S140- S146.

**Dhargalkar V.K. et Pereira N. (2005).** Seaweed: Promising plant of the millennium. *Science and culture*. 71, 60-66.

**Diaz-paulido G et McCook L. (2008).** Macroalgae (seaweeds). Edition: Great Barrier Reef Marine Park Authority, townsville .44p.

**Du Jardin P. (2015)** Plant biostimulants : Definition, concept, main categories and regulation. *Sci Hortic*. 196 : 3-14.

**Du Jardin P. (2012).** The Science of Plant Biostimulants-A bibliographic analysis. Adhoc Study Report to the European Commission DG ENTR., Issue (accessed 10.04.2016).

**Durand J.R. et Lévêque C. (1980).** Flore et faune aquatiques de l'Afrique sahélo-soudanienne. Editions: IRD. Montpellier. 873p.

**Durand N., Briand X. et Meyer C., (2003).** The effect of marine bioactive substances (NPRO) and exogenous cytokinins on nitrate reductase activity in *Arabidopsis thaliana*. *Physiologia Plantarum*. 119: 489-493.

**Durrant W.E. et Dong X. (2004).** Systemic acquired resistance. *Annu Rev Phytopathol* 42: 185-209.

**Dutuit P., 1999-**étude de la diversité biologique de l'*Atriplex halimus* pour le repérage in vitro et in vivo d'individus résistants à des conditions extrêmes de milieu et constitution de clones. Univ. Paris –Sud. P138.

### E

---

- El Hassouni H., Abdellaoui D., Gnaouat H., Dahmani F.Z., Bengueddour R. (2013).** Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de deux algues rouge, *ousmoundea pinnatifida* et *Gigartina acicularie*. scienceLib. Edition : Mersenne. 5, N° 130612
- El Kouri A., Bultel-Ponce V., Assobhei O., Etahiri S. (2004).** Etude de la variation saisonnière de l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire chez quelques espèces d'algues marines de la côte Atlantique Marocaine. Review of Biol. and Biotechnol, 3 (1).29-36.
- Elena M., Francisco Y. et Erickson K.L. (2001).** Mailiohydrin, a cytotoxic chamigrene dibromohydrin from a Phillippine *Laurencia* species, Journal of Natural Product.64Suppl 6:790-791.
- 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.
- Epstein E., Norlyn J.D., Rush D.W., Kingsbury R.W., Kelly D.B., Cunningham G.A. et Wrona A.F. (1980).** Saline culture of crops: a genetic approach. Science210: 399-404.
- 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.

### F

---

- Faller H. (2011).** Les applications et la toxicité des algues marines. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoge, faculté de pharmacie, 116p.
- Fan D. (2011).** *Ascophyllum nodosum* extracts improve shelf life and nutritional quality of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Dissertation, Dalhousie University
- Fogle V. W. et D. N. Munns. (1973).** Effect of salinity on the time course of wheat seedling growth. Plant physiol. 51:987-988.
- Garneau F.X. Collins G.J. (1995).** Valorisation de la biomasse végétale par les produits naturels. Recherche pour le développement international, p188.
- Gaucher F., Burdin S. (1974).** Géologie, géomorphologie et hydrologie des terrains salés. Paris : PUF ; 234 p.
- Gayral P. (1975).** Les algues : Morphologie cytologie reproduction écologie. Ed. Doin. Paris, P: 166.
- Geetha, B.V., Navasakthi, R., Padmini, E. (2010).** Investigation of antioxidant capacity and phytochemical composition of Sun Chlorella an in vitro study. Journal of Aquaculture Research & Development, 1(2), 104-111.

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

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

**Gutierrez C, Abee T et Booth I.R. (1995).** Physiology of the osmotic stress response in microorganisms. Int. J. Food Microbiol. 28: 233-244.

### *H*

---

**H, et Kadiri M. (2009).** Screening of antimicrobial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of morocco. African Journal of Biotechnology. 8 suppl 7: 1258-1262.

**Hajimahmoodi, M., Faramarzi, M.A., Mohammadi, N., Soltani, N., Oveisi, M.R., Nafissi-Varcheh, N., (2010).** Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. Journal of Applied Phycology, 22, 43-50.

**Hartmann A. (2007).** A halophilic and osmotolerant *Azospirillum brasilense* Strain from Algerian Soil restores Wheat Growth under Saline Conditions. Eng. Life. Sci. 7: 354-360.

**Helillo C., De La Broise D., Dufoddé L., Le Gal Y., Bourgougnon N. (2001).** Inhibition of marine bacteria by extract of macroalgae : pottentiel use for environmentally drindly antifouling paints. Marine Environement Research. 52, 231-247.

**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.

**Hopkins W. G. et Évrard C. M. (2003) :** Physiologie végétale. De Boeck Supérieur, Bruxelles, Belgique. 532 pages.

**Hortense F. (2011)** les applications et la toxicité des algues marines. Université de limoges.

**Hurtado A.Q, Yunque D.A, Tibubos K, Critchley (2009).** Use of Acadian marine plant extract powder from *Ascophyllum nodosum* in tissue culture of *Kappaphycus* varieties. J Appl Phycol 21: pp. 633-639.

### *I*

---

**Imhoff, J. F. 1986.** Osmoregulation and compatibles solutes in eubacteria. FEMS. Microbiol. Rev. 39: 57-66.

### J

---

**Jaime, L., Mendiola, J.A., Herrero, M., Soler-Rivas, C., Santoyo, S, Señorans F.J, Cifuentes, A., Ibáñez, E. (2005).** Separation and characterization of antioxidants from *Spirulina platensis* microalgae combining pressurized liquid extraction, TLC, and HPLC-DAD. *The Journal of Separation Science*, 28, 2111– 2119.

**Jannin L. (2012).** Caractérisation des modifications physiologiques et métaboliques induites chez *Brassica 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.

**Jayaraj J., Wan A., Rahman M., Punja Z.K. (2008).** Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Prot.* 27: 1360-1366.

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

### K

---

**Khallil A.M., Daghaman 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 Prithiviraj B. (2009).** Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant Growth Regul.* 28: 386–399.

**Kim J.H., Hudson J.B., Huang A.M., Bannistes K., Jin H. , Choi T.J., Towers G.H.N., Hong Y.K. et Dewreede R.E. (1997).** Biological activities of seaweed extracts from British, Columbia, Canada and Korea. I. Antiviral Activity. *Can. J. Bot. Rev. Can. Bot.* 75 Suppl 10: 1656-1660.

**Kim D. k., Lee C.Y. (2004).** Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44: 253–273.

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

**Kinet J.M., Benrebaha F., Bouzid S., Lailhacar S., Dutuit P. (1999).** Le réseau Atriplex ou comment allier biotechnologies et écologie pour une sécurité alimentaire accrue en régions semi arides et arides. IN ESTEM eds, *Actualités scientifiques: Biotechnologie, amélioration des plantes et sécurité alimentaire*: 89-93.

**Kumar A.K., Rengasamy R., (2000).** Evaluation of antibacterial potential of seaweeds occurring along the coast of Tamil Nadu, India against the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye. *Bot. Mar.* (43). 409 -415.

**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.

**Kumar N.J.I., Barot M., Kumar R.N. (2014)** Phytochemical analysis and antifungal activity of selected seaweeds from Okha Coast, Gujarat, India. *Life sci leaflets* 52: 57-70.

### L

---

**Larcher, W. (1995)** *Physiological Plant Ecology. Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups.* Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

**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 (Fucales, Phaeophyceae) en milieu tempéré et tropical : écologie, chimie, taxonomie et source de composés bioactifs. Thèse de Doctorat de Biologie Marine. Université de Bretagne Occidentale, Ecole Doctorale des Sciences de la Mer, Bretagne, 367p.

**Louvieux J. (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 ; Université Libre de Bruxelles (ULB) – Ingénieur Agronome (Bioingénieur en Agronomie) 2004.

**Rahmoune C., Sdiri H., Meddahi M. L., et Selmi M. (2001).** Effet du stress salin sur la germination, la croissance et la production en grains de quelques variétés maghrébines de blé. *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 12(3), 167-74.

**Mahajan S., et Tuteja N. (2005).** Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.

**Maillard J. (2001).** Le point sur l'Irrigation et la salinité des sols en zone sahélienne. Risques et recommandations. *Handicap International*. Novembre 2001, 34 p.

**Mäkelä P., Kontturi M., Pehu E., 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.

**Mcneil S., Nuccio M., 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.
- Meloni. D.A., Oliva. M.A., Ruiz. H.A., Martinez. C.A. (2001).** Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. J. Plant nute. 24, 599-612.
- Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A., & Cambraia, J. (2003).** Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental and Experimental Botany, 49(1), 69-76.
- Memory T. (2006).**Biologie Module 1, Diversité des algues et des plantes ,45 p.
- 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.NewPhytologist.149: 43-51.
- Mérigout P. (2006).** Etude du métabolisme de la plante en réponse à l'apport de différents fertilisants et adjuvants culturaux. Influence des phytohormones sur le métabolisme azoté. Thèse de Doctorat, INRA Paris-Grignon, France, 230p.
- Miladovic S., Ivekovic D. et Bozidar S.G. (2006).** A novel amperometric method method for antioxydant activity determination using DPPH free radical. Bioelectrochemistry, 68: 175-180.
- Mishra A., et Jha B. (2011).** Antioxidant response of the microalga Dunaliella salina under salt stress. Botanica Marina, 54(2), 195-199.
- Moreau J., Pesando D., Caram B. (1984).** Antifungal and antimicrobial screening of Dictyotales from the French Mediterranean Coast. Hydrobiol. 1984, 116/117: 521-524.
- Mossab M. (2007).** Contribution à l'étude de l'exploitation à double fin de l'orge (H, vulgare) en zones semi-arides et d'altitude .Thèse De magister, INA ELHarrache.
- Munns. R., James. R.A., Lauchli. R. (2006).** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany ; 57 (5) : 1025-1043.
- Munns R. Et Tester M. (2008).** Mechanisms of salinity tolerance. Ann. Rev. Plant Biol. 59: 651-681
- MurrayM. et ThompsonW.F. (1980). Rapid isolation of high molecular weight plant DNA.Nucl. Acids. Res.8: 4321-4325.

## N

---

- 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.
- Nabti E., Schmid M., Hartmann A. (2015).** Application of halotolerant bacteria to restore plant growth under salt stress In: Maheshwari DK, Saraf M (eds) Halophile: Biodiversity and Sustainable Exploitation. Springer, Switzerland, pp 235-359.

**Naghraoui M., (2012).** Activités antioxydantes et antimicrobiennes de l'extrait brut et ses fractions de l'algue rouge *Coraiina officinalis*, récoltée sur la côte ouest algérienne (plage de Madrid), Mémoire de fin d'études. 30.

**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.

### O

---

**Okai Y., Higashi O.K., Ishizaka S., et Yamashita U. (1997).** Enhancing Effect of polysaccharide from an edible brown alga, *Hijikia fusiforme* (Hijiki), on release of tumour necrosis factor alpha from macrophages of endotoxin nonresponder C3H/HeJ Mice. *Nutr Cancer*.27Suppl1: 74-79.

**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.

**Oren, A. (2003).** Organic compatible solutes. In: Oren, A. (ed). *Cellular Origin and Life in Extreme Habitats*, volume 5: Halophilic microorganisms and their environments. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 279-305.

### P

---

**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.

**Porcel R., Ruiz-Lozano J.M., Azcon C. et Aroca R. (2012).** Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies: 4033–4044.

**Prasad K.V.S.K., Sharmila P., Kumar P.A., Saradhi P.P. (2000).** Transformation of *Brassica juncea* (L.) Czern with bacterial cod A gene enhances tolerance to salt stress. *Molecular Breed*, 6:489-499.

**Premila J.C., Raviraja N.S. et Sridhar K.R. (1996).** Antimicrobial activity of some marine algae of southwest coast of India. *Indian J. Mar.Sci.*26Suppl 2: 201-205.

**Prithviraj 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*. Eur J Plant Pathol. 131:237–248.

### R

---

**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.

**Rathore S.S., Chaudhary D.R., Boricha G.N., Ghosh A., Bhatt B.P., Zodape S.T. et 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 D.M., Allan-Wojitas P., MacKinnon S., Critchley A.T., Prithiviraj B. (2009).** Lipophilic component of the brown seaweed, *Ascophyllum nodosum*, enhance freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. Planta .230: 135-147.

**Rebereau-Gayon p. (1968).** Notion générale sur les composés phénoliques. In : les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, 1-40.

**Reichert J. L., et Borowitzka M.A. (1983):** Antimicrobial activity from marine algae: results of a large-screening programme. Proc. Int. Seaweed Symp. I I: 158 -168.

**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.

**Rubio F., Gassmann W. et Schröder J.I. (1995).** Sodium driven potassium uptake by the plant potassium transporter HKT1 and mutations conferring salt tolerance. Science 270:1660-1663.

### S

---

**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.

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

**Sarojini y., Lakshminarayana K., Seshagiri P., 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.

**Shivanand P., Mugeraya G (2011).** Halophilic bacteria and their compatible solutes osmoregulation and potential applications. *Curr.Sci*100: 10

**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.

**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.

**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.

**Strøm, A.R., D. Le Rudulier, M.W. Jakowec, R.C. Bunnell et R.C. Valentine. 1983.** Osmoregulatory (Osm) genes and osmoprotective compounds. p.39-59 In T. Kosuge, C. Meredith and A. Hollaender (ed.), *Genetic engineering of plants*. Plenum publishing Corp., New York.

**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* DOI10.1007/s10658-011-9802-6.

**Sudhir, P., et Murthy, S. D. S. (2004).** Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42(2), 481-486.

**Sukatar A., Karabay-Yavasoglu N.U., Ozdemir G. and Horzum Z. (2006).** Antimicrobial activity of volatile component and various extracts of *Enteromorpha linza* (Linnaeus) J. Agardh from the coast of Izmir, Turkey. *Anal. Microbiol.* 56:275–279.

## T

---

**Tanji K.K. (1990).** Nature and extent of agricultural salinity. In: Tanji KK (ed) *Agricultural salinity assessment and management*. American Society of Civil Engineers, New York, pp 1–17.

**Tester M., Davenport R. (2003).** Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Ann Bot* 91:503–527.

### V

---

**Van Oosten M.J., 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.

**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*.

**Viguerie N., Millet L., Avizou S., Vidal H., Larrouy D., Langin D. (2002).** Regulation of human adipocyte gene expression by thyroid hormone; *87(2)*: 630 – 4.

**Vincent E. (2010).** Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie: application a la construction d'un biomatériau. Thèse de doctorat en pharmacie. Université henrie poincare-nancy 1.p 135.

**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.

### W

---

**Wu S.C., Cao Z.H., Li Z.G., Cheung K.C. et Wong M.H. (2005).** Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. *Geoderma*, 125: 155-166.

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

### Y

---

**Yeon-Hee K., Jeong Hwan K., Hyung-joo J. et Si Young L. (2013).** Antimicrobial activity of ethanol extract of *Laminaria japonica* against oral micro-organisms. *Anaerobe*.21, 34-38.

**Yi Z., Yan Y., Liang Y., et Zeng B. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus Cultivar and its main flavonoid. *LWT*, 41:597 603.

**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.

### Z

---

**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 B., Su J., Chang M.C., Verma D.P.S., Fan Y.L., Wu R. (1998).** Over expression of a pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in transgenic rice. *Plant Science*, 139:41-48.

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

**Zodape S.T. (2001).** Seaweeds as a biofertilizer. *Journal of scientific and industrial research*. PP 378-382.

## 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

## ➤ Muller Hilton (MH) :

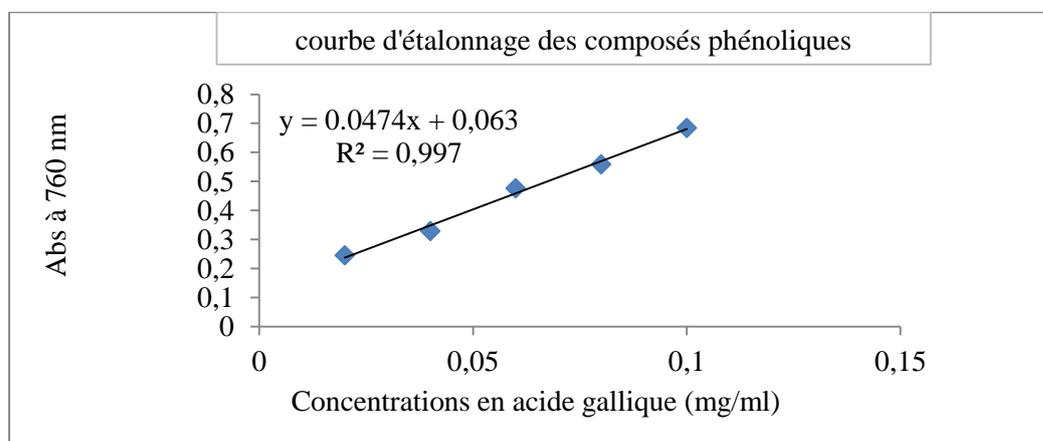
Compositions	Quantité (g)
Extrait de viande	2
Hydrolysate acide de caséine	17.5
Amidon	1.5
Agar	10
pH	7.4

## ➤ Bouillon nutritif :

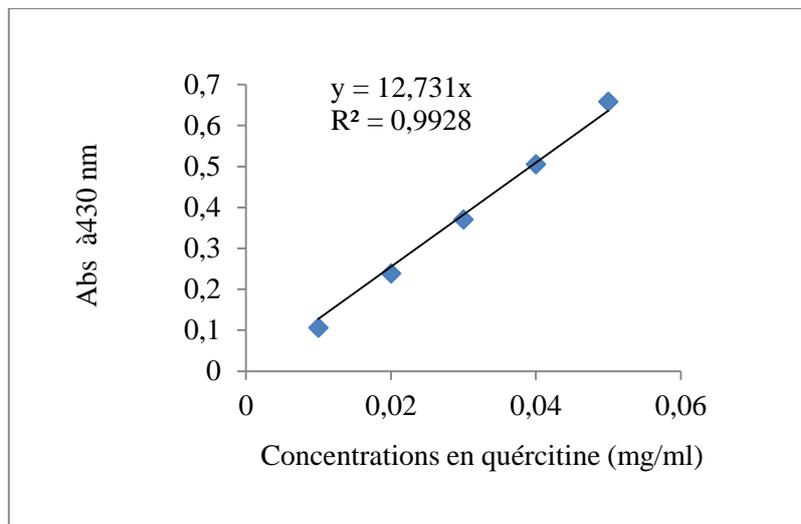
Compositions	Quantité (g)
Peptone	10
Extrait de viande	5
Chlorure de sodium	5
pH	7.2±0.2

## Annexe II : Courbes d'étalonnage

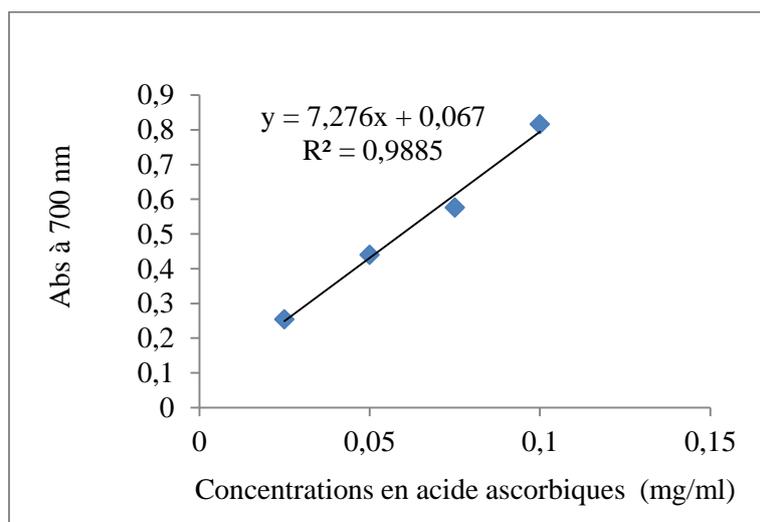
## ➤ courbe d'étalonnage des composés phénoliques



## ➤ Courbe d'étalonnage des flavonoïdes



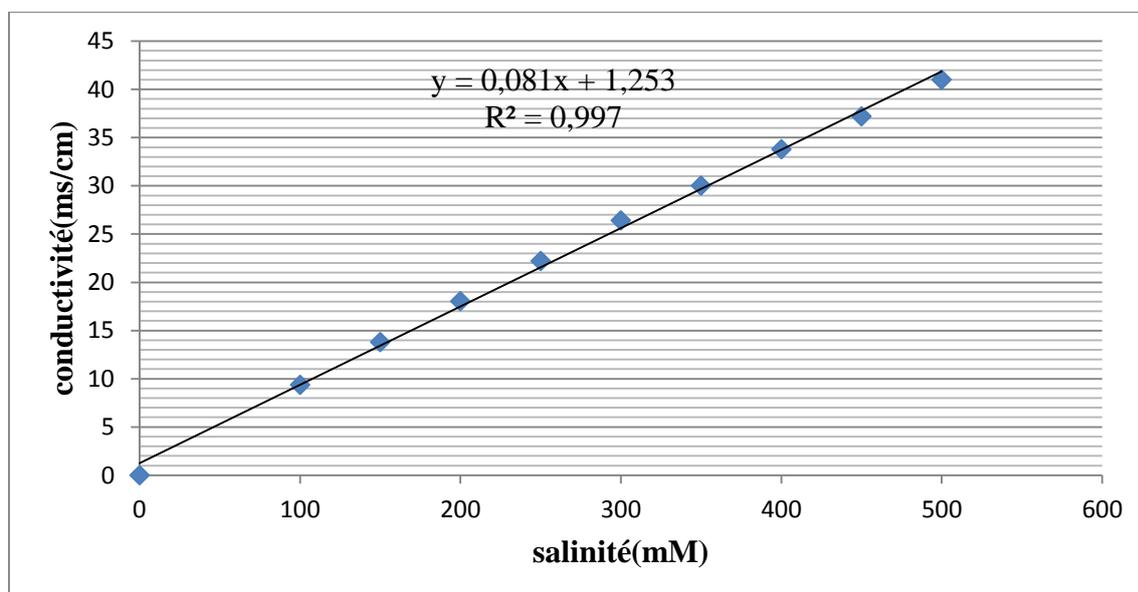
## ➤ Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur



## Annexe III : Les concentrations en NaCl utilisées pour 100ml

NaCl [ mM ]	NaCl [ g/ml ]
50	0.292
100	0.584
150	0.876
200	1.168
250	1.461
300	1.758
350	2.045
400	2.337

## Annexe IV : Courbe de conductivité en fonction de la salinité



**Résumé :**

L'objectif du présent travail est d'évaluer l'effet des extraits d'algues sur la stimulation de la croissance de l'orge dans des conditions normales ou sous stress salin. Les algues marines *Cystoseira* sp. et *Enteromorpha intestinalis* sont testées pour leurs l'activités antifongique et antibactérienne en utilisant deux types d'extraits (aqueux autoclavé et éthanolique). L'activité anti-oxydante (test de DPPH et de pouvoir réducteur) ainsi que l'évaluation de la composition de ces extraits en polyphénols et flavonoïdes sont également réalisées. L'extrait d'algue *Cystoseira* sp. est testé pour sa capacité à restaurer la croissance de l'orge sous stress salin (350mM de NaCl). D'après les résultats obtenus, il s'est avéré que les extraits des deux espèces d'algues sont riches en composés phénoliques et présentent des activités anti-oxydantes et antimicrobiennes intéressantes. L'ajout des extraits d'algue a restauré tous les paramètres de croissance (Longueur ; poids frais et poids sec des tiges et des racines), cependant, sur la teneur en chlorophylle, seules la chlorophylle a et totale sont améliorées.

**Mots clés :** Algues marines, *Cystoseira* sp., stress salin, orge, biostimulants.

**Abstract:**

The main focus of this work is to evaluate the algal extracts effect on stimulation of barley growth under normal and saline conditions. The marine algae *Cystoseira* sp. and *Enteromorpha intestinalis* are tested for their antifungal and antibacterial activities using two extracts (autoclaved (aqueous) and ethanolic extract). The antioxidant activity (DPPH and reducing power assay) as well as the evaluation of polyphenols and flavonoids content are also carried out. *Cystoseira* sp. extract was tested for its ability to restore barley growth under salt stress (350mM NaCl). The obtained data showed that the extracts of both algal species are rich in phenolic compounds and exhibit interesting anti-oxidant and antimicrobial activities. The algal extracts addition restored all growth parameters (length, fresh weight and dry weight of shoots and roots), however, only chlorophyll a and total were improved among the chlorophyll content

**Key words:** Seaweed, *Cystoseira* sp., salt stress, barley, biostimulants.

# **Introduction**

# **Synthèse bibliographique**

**Matériel**  
**et**  
**Méthodes**

**Résultats**  
**et**  
**Discussion**

# Conclusion

# **Références bibliographiques**

# **Annexes**