

# THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE DE NANTES  
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N°598  
*Sciences de la Mer et du littoral*  
Spécialité : Biologie des organismes – Biotechnologie animales,  
végétales et microbiennes

Par **Fatima LAKHDAR**

## **Contribution à l'étude des potentialités antiproliférative et antibactérienne des algues brunes et rouges de la côte d'El Jadida pour une valorisation médicale et environnementale**

**Thèse présentée et soutenue à El Jadida (Maroc), le 23 juin 2018**  
**Unité de recherche : EA2160, Mer Molécules Santé**  
**Thèse N° :**

### **Rapporteurs avant soutenance :**

Mme Samira KHLIFI Professeur  
Université Chouaib Doukkali, El Jadida, Maroc

Mr Abdelali CHRAIBI Professeur  
Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Mr Abdelillah IRAQI HOUSSEINI Professeur  
Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc

### **Composition du Jury :**

Mr Omar ASSOBBHEI Professeur (Président)  
Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc

Mme Samira KHLIFI Professeur  
Université Chouaib Doukkali, El Jadida, Maroc

Mr Abdelali CHRAIBI Professeur  
Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

Mr Abdelillah IRAQI HOUSSEINI Professeur  
Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc

Mme Amal SERGHINI Professeur  
Université Mohammed V, Rabat, Maroc

Mme Gaëtane WIELGOSZ-COLLIN Maître de conférences Hdr  
Université de Nantes, France Directeur de thèse

Mme Samira ETAHIRI Professeur  
Université Chouaib Doukkali, El Jadida, Maroc Directeur de thèse

Mr Joël FLEURENCE Professeur  
Université de Nantes, France Co-directeur de thèse

## RESUME

La côte marocaine est particulièrement riche en algues et constitue une réserve d'espèces avec un potentiel économique, social et écologique considérable.

L'objet de ce travail se focalise sur la recherche et la caractérisation de composés bioactifs d'origine algale qui peuvent être utilisés soit en pharmacologie ou bien en phytopathologie.

Le premier volet est consacré à l'étude des potentialités nutritionnelles et pharmacologiques de 6 espèces d'algues marines, parmi 24, les plus riches en lipides. La recherche des fractions actives en utilisant différentes méthodes de purification et d'essais bioguidés, ont montré une importante activité antiproliférative contre les cellules humaines du cancer du poumon (NSCLC-N6 et A549) avec une  $CI_{50} < 13\mu\text{g/mL}$ . Ces fractions, contenant des monogalactosyl-diacylglycerol font l'objet d'élucidation du point de vue structural (RMN et Masse haute résolution) plus poussées.

Le deuxième volet est consacré à la valorisation des algues marines en phytopathologie. L'étude de l'activité antibactérienne a permis de déterminer *in vitro* et *in vivo* l'effet bio-pesticide des extraits d'algues récoltées contre la pourriture molle de la pomme de terre causée par *Dickeya dadantii*.

Les résultats de cette étude ont montré que les algues étudiées présentent une activité antibactérienne importante, celles qui appartiennent au groupe des phéophycées et rhodophycées étaient les plus actives contre la pourriture molle de la pomme de terre.

Leur utilisation directe sur des plantes de pomme de terre infectées par *Dickeya dadantii* comme biostimulant montre une élimination nette des symptômes de la pourriture molle et une amélioration de la croissance chez les plantes prétraitées par différentes concentrations d'extraits d'algues. Ces derniers semblent ainsi intervenir en accélérant et en intensifiant l'enrichissement des plantes en enzymes impliquées dans la cascade de signalisation afin de stimuler les mécanismes de défenses. L'élicitation par les extraits d'algues semble donc intervenir en renforçant les mécanismes de défense des plantes de la pomme de terre vis-à-vis de *Dickeya dadantii*.

L'implication des extraits d'algues dans la défense de la plante n'est plus à démontrer et semble agir soit directement par leurs propriétés toxiques vis-à-vis des agents pathogènes, soit de manière indirecte en renforçant les systèmes de défense de la plante.

**Mots clés :** Phytopathologie, biostimulant, mécanismes de défense, pourriture molle (*Dickeya dadantii*), bio-pesticide, potentialités pharmacologiques, antibactérienne, antiproliférative, lipides

# ABSTRACT

The Moroccan coast is particularly rich in seaweed and is a reserve of species with considerable economic, social and ecological potential. As such, the main objective of this study is to conduct research and characterize the bioactive compounds of algal origin that can be used either in pharmacology or in phytopathology. To this end, the study is divided into two parts:

The first part deals with the study of the nutritional and pharmacological potentialities of six species of seaweed, among 24, the richest in lipids. The search for active fractions using different purification methods and bioguide tests, showed a significant antiproliferative activity against human lung cancer cells (NSCLC-N6 and A549) with an  $IC_{50} < 13\mu\text{g/mL}$ . These monogalactosyl-diacylglycerol-containing fractions are further elucidated structurally (NMR and high resolution mass).

The second part deals with the valorisation of seaweed in phytopathology. The study of the antibacterial activity made it possible to determine *in vitro* and *in vivo* the bio-pesticidal effect of the algae extracts harvested against the soft rot of the potato caused by *Dickeya dadantii*.

The findings demonstrated that the algae under study showed significant antibacterial activity, those belonging to the class of pheophyceae and rhodophyceae were the most active against soft rot of the potato. Their direct use of potato plants infected with *Dickeya dadantii* as a biostimulant showed a clear elimination of symptoms of soft rot and an improvement in growth in plants pretreated with different concentrations of algae extracts. The latter seems to intervene by accelerating and intensifying the enrichment of plants in enzymes involved in the signaling cascade in order to stimulate the defense mechanisms. Elicitation by algae extracts seems to intervene through strengthening the defense mechanisms of potato plants against *Dickeya dadantii*.

The involvement of algae extracts in the defense of the plant is well established and seems to act either directly by their toxic properties against pathogens, or indirectly by strengthening the defense systems of the plant.

**Keywords:** Phytopathology, biostimulant, defense mechanisms, soft rot (*Dickeya dadantii*), bio-pesticide, pharmacological potential, antibacterial, antiproliferative, lipids.



## *Remerciements*

Au terme de ce travail, je tiens tout d'abord à remercier le Professeur **Omar ASSOBBHEI**, Président de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah et Ex-directeur du Laboratoire de Biotechnologies Marine et de l'Environnement (BIOMARE), pour son accueil au sein du Laboratoire, pour son aide, ses conseils, ses encouragements incessants et pour tous les efforts qu'il n'a cessé d'employer.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude au Professeur **Samira ETAHIRI**, directrice du Laboratoire BIOMARE, pour m'avoir accueillie au sein du Laboratoire. Merci pour la confiance que vous m'avez accordée. Je tiens aujourd'hui à vous remercier chaleureusement pour votre rôle dans l'élaboration de ce travail, votre encadrement, votre suivi, les idées scientifiques et les précieux conseils apportés tout au long de ces années de recherche. Je vous témoigne ma profonde reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent aux Professeurs **Gaëtane WIELGOSZ-COLLIN** et **Joël FLEURENCE** de l'Université de Nantes, pour m'avoir accueillie au sein de leur équipe, dirigé ma thèse et m'ont permis de découvrir le vaste domaine d'application des lipides. Je les remercie aussi pour leur disponibilité et pour le temps qu'ils m'ont consacré, ainsi que pour leurs conseils, leur soutien et leurs encouragements tout au long de ma thèse.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur **Yves François POUCHUS**, Professeur à l'Université de Nantes, qui m'a permis de réaliser ma thèse au sein du Laboratoire Mer Molécules Santé.

Je tiens à remercier également :

Professeur **Samira KHLIFI**, de la Faculté des Sciences d'El Jadida, de m'avoir fait l'honneur d'être parmi les honorables membres du Jury afin de juger et enrichir ce travail par ses conseils. Qu'elle trouve ici le témoignage de mon profond respect et ma haute considération.

Professeur **Abdelali CHRAIBI**, de la Faculté des Sciences Semlalia de Marrakech, qui m'a fait un réel plaisir d'accepter de juger ma thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma plus grande estime et ma profonde reconnaissance.

Professeur **Abdelillah IRAQI HOUSSAINI**, de la Faculté des Sciences Dhar-Mahraz-Fès, qui m'a honorée en acceptant de siéger au jury de cette thèse en tant que rapporteur. Je tiens à lui exprimer mes cordiaux remerciements.

Professeur **Amal SERGHINI**, de l'Institut Scientifique-Rabat, d'être parmi les membres du Jury afin de juger ce travail en tant qu'examineur. Qu'elle trouve ici le témoignage de mon profond respect.

Je tiens également à remercier vivement les professeurs **Nathalie BOURGOUGNON** et **Erwan ARGALL**, d'avoir été membres de mon Comité de suivi de thèse, pour leur aide et leurs conseils.

Merci à tout le corps enseignant et à tout le personnel administratif et technique de l'**ISOMER** pour leur assistance et leur convivialité. Ainsi, mes sincères remerciements vont à :

- Madame **Vony RABESAOTRA**, pour son aide tout au long de mon stage, ainsi que pour son soutien, ses encouragements, ses conseils et sa contribution.
- Madame **Aurélié COUZINET-MOSSION**, pour sa disponibilité et son aide durant les analyses réalisées par CPG/SM des lipides et pour sa contribution à la réalisation de ce travail.
- Madame **Justine DUMAY**, qui m'a permis de réaliser les analyses des protéines et sucres des algues.
- Monsieur **Christophe TOMASONI**, qui m'a aidé pour la réalisation des tests anticancéreux.

Je n'oublie pas de remercier tous les membres du Laboratoire **BIOMARE**, Professeurs et Doctorants ainsi que tous mes enseignants de la Faculté des Sciences d'El Jadida pour leurs encouragements qu'ils trouvent ici mes sincères sentiments de considération et de respect.

Ce travail a bénéficié d'un soutien financier du Réseau National de Sciences et Techniques de la Mer (REMER) et de l'Action Intégrée (Hubert Curien VOLUBILIS n° :

MA/12/275 et n° : 27106SJ) qui a permis la réalisation de mes stages en France durant toutes ces années et que je tiens à remercier pour l'aide qu'ils m'ont apporté.

Pour finir, je souhaiterais remercier mes proches et surtout mes chers parents, mes sœurs et mon frère pour leur soutien, leurs encouragements et leur patience tout le long de mes études, qu'ils trouvent ici l'expression de ma tendresse et de mon grand amour à leur égard. Je n'oublie pas non plus de remercier mes plus chers amis qui m'ont accompagnée durant toutes ces années.

## *Je dédie cette thèse*

*A la mémoire de mon très cher Père  
qui aimait tant les sciences.  
Le souvenir, c'est la présence invisible  
(Victor Hugo)*

*A ma très chère Mère,  
pour tous ses sacrifices,  
ses encouragements et à qui,  
cette thèse revient en premier...*

*A mes très chères sœurs Khadija, Amina et Safaa,  
pour leurs aides, leurs générosités,  
leurs encouragements et leurs disponibilité...*

*A mon très cher frère Abdellah  
pour son affection et son soutien  
Il m'est très cher...*

*A l'ensemble de ma famille...*

*A mes très chers encadrants...*

*A tous mes amis...*

*Et à toutes les personnes qui me sont chères...*

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b> : Acide désoxyribonucléique	<b>IBr</b> : Indice de brunissement
<b>AGL</b> : Acides gras libres	<b>ISR</b> : Résistance systémique induite
<b>AGMI</b> : Acide gras monoinsaturés	<b>LCE</b> : Longueur de chaîne équivalente
<b>AGPI</b> : Acides gras polyinsaturés	<b>LT</b> : Lipides totaux
<b>AGS</b> : Acides gras saturés	<b>MAG</b> : Monoacylglycérols
<b>AGT</b> : Acides gras totaux	<b>MeOH</b> : Méthanol
<b>ALA</b> : Acide $\alpha$ -linoléique	<b>MGDG</b> : Monogalactosyldiacylglycérols
<b>ARA</b> : Acide arachidonique	<b>MH</b> : Muller Hinton
<b>BSA</b> : Albumine sérique bovine	<b>MS</b> : Matière sèche
<b>CCM</b> : Chromatographie sur Couche Mince	<b>MTT</b> : Sel de tétrazolium
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> : Dichlorométhane	<b>NAP</b> : <i>N-acyl</i> pyrrolidides
<b>CI<sub>50</sub></b> : Concentration inhibitrice médiane	<b>PAL</b> : Phénylalanine ammoniacase
<b>CMI</b> : Concentration minimale inhibitrice	<b>Pba</b> : <i>Pectobacterium atrosepticum</i>
<b>CPG/SM</b> : Chromatographie phase gazeuse/ Spectrométrie de masse	<b>PC</b> : Phosphatidylcholines
<b>CPT</b> : Composés phénoliques totaux	<b>Pcc</b> : <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>
<b>DAG</b> : Diacylglycerols	<b>PE</b> : Phosphatidyléthanolamines
<b>DGDG</b> : Digalactosyldiglycérols	<b>PG</b> : Phosphatidylglycérols
<b>DHA</b> : Acide docosahexaénoïque	<b>PL</b> : Phospholipides
<b>DO</b> : Densité optique	<b>POX</b> : Peroxydase
<b>EBL</b> : Extrait brut lipidique	<b>PPO</b> : Polyphénol-oxydase
<b>EMAG</b> : Acides gras à l'état méthyliques	<b>PR</b> : Pathogenesis-Related Proteins
<b>EPA</b> : Acide eicosapentaénoïque	<b>PRM</b> : Pourcentage de réduction de la maladie
<b>eV</b> : Electron volt	<b>PSII</b> : Photosystème II
<b>FAO</b> : Forme active de l'oxygène	<b>PVP</b> : Polyvinylpyrrolidone
<b>F.O.L</b> : <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<b>PVX</b> : Potato Virus X
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> : Peroxyde d'hydrogène	<b>PVY</b> : Potato Virus Y
<b>HR</b> : Réponse hypersensible locale	<b>RF</b> : Rapport Frontal
	<b>ROS</b> : Espèces réactives de l'oxygène

**SA** : Acide salicylique

**SAR** : Résistance systémique acquise

**SQDG** : Sulfoquinovosyldiacylglycérols

**STA** : Acide stearidonic

**TAG** : Triacylglycérols.

**TMV** : Virus de la mosaïque du tabac

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UV** : Radiation ultraviolet

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Classification des lipides dans les algues .....	12
<b>Figure 2</b> : Structure chimique de phospholipides des algues. ....	13
<b>Figure 3</b> : Structure chimique des principaux acides gras poly-insaturés oméga 3 des algues : l'acide alpha-linolenique ALA (A), l'acide eicosapentaénoïque EPA (B), l'acide docosahexaénoïque DHA (C) .....	14
<b>Figure 4</b> : Structure chimique des principaux glycolipides des algues marines : le monogalactosyldiacylglycerol MGDG (D) ; le digalactosyldiacylglycerol DGDG (E) et le sulfoquinovosyldiacylglycerol SQDG (F) .....	15
<b>Figure 5</b> : Structure chimique d'un triacyglycérol et du squelette de base des stérols des algues marines .....	16
<b>Figure 6</b> : Aspect de quelques symptômes causés par <i>Pectobacterium</i> sp.. ....	37
<b>Figure 7</b> : Localisation du site de collecte des algues (Sidi Bouzid-El Jadida, Maroc) .....	48
<b>Figure 8</b> : Protocole de saponification des extraits lipidique .....	50
<b>Figure 9</b> : Principe du test de détermination de la CI <sub>50</sub> .....	52
<b>Figure 10</b> : Moyenne des % d'acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) en fonction des différentes espèces d'algues étudiées par rapport aux acides gras totaux-AGT) .....	65
<b>Figure 11</b> : Schéma de fractionnement de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	69
<b>Figure 12</b> : Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des lipides neutres de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	70
<b>Figure 13</b> : Chromatographie sur couche mince analytique du deuxième fractionnement de la fraction D1 issu des lipides neutres de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	70
<b>Figure 14</b> : Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des glycolipides de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	73
<b>Figure 15</b> : Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des glycolipides de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	73
<b>Figure 16</b> : Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des glycolipides de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	74
<b>Figure 17</b> : Schéma de fractionnement de l'extrait de l'algue <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	76
<b>Figure 18</b> : Microscopie électronique de <i>Dickeya dadantii</i> . ....	83

<b>Figure 19</b> : Microscopie électronique à transmission de <i>Pectobacterium carotovorum</i> ( <i>Erwinia carotovora</i> ).....	83
<b>Figure 20</b> : Photographies des tubercules de pomme de terre trempées dans différentes concentrations d'extrait aqueux d'algues .....	85
<b>Figure 21</b> : Photographies de trempage des racines des plantes de pomme de terre dans une solution bactérienne de <i>Dickeya dadantii</i> .....	86
<b>Figure 22</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	102
<b>Figure 23</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	103
<b>Figure 24</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	104
<b>Figure 25</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	105
<b>Figure 26</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	106
<b>Figure 27</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	107
<b>Figure 28</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	108
<b>Figure 29</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	109
<b>Figure 30</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	110
<b>Figure 31</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre.....	111
<b>Figure 32</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	112
<b>Figure 33</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre .....	113
<b>Figure 34</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre.....	114
<b>Figure 35</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre.....	115

<b>Figure 36</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre.....	116
<b>Figure 37</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre.....	117
<b>Figure 38</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre.....	118
<b>Figure 39</b> : Effet de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre.....	119
<b>Figure 40</b> : Effet des extraits aqueux de deux algues brunes à différentes concentrations sur le brunissement vasculaire des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre.....	120
<b>Figure 41</b> : Effet des extraits aqueux de quatre algues rouges à différentes concentrations sur le brunissement vasculaire des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre.....	121
<b>Figure 42</b> : Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopityis incurvus</i> .....	124
<b>Figure 43</b> : Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> .....	125
<b>Figure 44</b> : Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	126
<b>Figure 45</b> : Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	127
<b>Figure 46</b> : Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	128
<b>Figure 47</b> : Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> .....	129
<b>Figure 48</b> : Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> . .....	134
<b>Figure 49</b> : Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	135
<b>Figure 50</b> : Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> .....	136

<b>Figure 51</b> : Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> . .....	136
<b>Figure 52</b> : Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> .....	137
<b>Figure 53</b> : Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> . .....	137
<b>Figure 54</b> : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> . .....	139
<b>Figure 55</b> : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> . .....	139
<b>Figure 56</b> : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> . .....	140
<b>Figure 57</b> : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> . .....	141
<b>Figure 58</b> : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> .....	141
<b>Figure 59</b> : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	142
<b>Figure 60</b> : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> . .....	143
<b>Figure 61</b> : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	143
<b>Figure 62</b> : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> . .....	144
<b>Figure 63</b> : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> . .....	145
<b>Figure 64</b> : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> .....	145
<b>Figure 65</b> : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	146

<b>Figure 66</b> : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> .....	147
<b>Figure 67</b> : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	148
<b>Figure 68</b> : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> .....	149
<b>Figure 69</b> : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	149
<b>Figure 70</b> : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> .....	150
<b>Figure 71</b> : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	150
<b>Figure 72</b> : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> .....	152
<b>Figure 73</b> : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	152
<b>Figure 74</b> : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> .....	153
<b>Figure 75</b> : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	154
<b>Figure 76</b> : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> .....	154
<b>Figure 77</b> : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	155
<b>Figure 78</b> : Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Laminaria digitata</i> .....	156
<b>Figure 79</b> : Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	157

<b>Figure 80</b> : Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Ellisolandia elongata</i> .....	158
<b>Figure 81</b> : Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	158
<b>Figure 82</b> : Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Halopitys incurvus</i> .....	159
<b>Figure 83</b> : Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	159

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1</b> : Taux des lipides chez les algues marines récoltées sur la côte atlantique de Sidi Bouzid (El Jadida-Maroc) .....	57
<b>Tableau 2</b> : Moyenne des lipides totaux accordés aux groupes d'algues .....	58
<b>Tableau 3</b> : Moyenne des lipides totaux chez les algues brunes.....	59
<b>Tableau 4</b> : Moyenne des lipides totaux chez les algues vertes.....	60
<b>Tableau 5</b> : Moyenne des lipides totaux chez les algues rouges.....	60
<b>Tableau 6</b> : Composition des acides gras saturés des différentes algues étudiées .....	63
<b>Tableau 7</b> : Composition des acides gras insaturés des différentes algues étudiées .....	64
<b>Tableau 8</b> : Composition de l'insaponifiable des différentes algues étudiées .....	68
<b>Tableau 9</b> : Activité antibactérienne des différentes fractions de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	71
<b>Tableau 10</b> : Activité antibactérienne des différentes sous fractions obtenues de la fraction Dc1 de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	72
<b>Tableau 11</b> : Activités antiprolifératives (CI <sub>50</sub> ) des différentes fractions obtenues par séparation des lipides sur colonne pour <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	77
<b>Tableau 12</b> : Activité antibactérienne des extraits d'algues vertes vis-à-vis des bactéries du genre <i>Pectobacterium</i> .....	95
<b>Tableau 13</b> : Activité antibactérienne des extraits d'algues rouges vis-à-vis des bactéries du genre <i>Pectobacterium</i> .....	97
<b>Tableau 14</b> : Activité antibactérienne des extraits d'algues brunes vis-à-vis des bactéries du genre <i>Pectobacterium</i> .....	98
<b>Tableau 15</b> : Caractérisation chimique des plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues rouges et brunes .....	131

# Sommaire

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
------------------------------------	----------

## **PARTIE I : Etude bibliographique**

<b>Chapitre I : Les algues marines et leurs valorisations.....</b>	<b>4</b>
<b>I. Définition des algues marines .....</b>	<b>4</b>
<b>II. Classification des algues marines .....</b>	<b>4</b>
1. Les algues vertes : Chlorophycées .....	5
2. Les algues rouges : Rhodophycées .....	5
3. Les algues brunes : Phéophycées .....	5
<b>III. Répartition géographique des algues marines.....</b>	<b>6</b>
<b>IV. Composition algale de la région d'El Jadida .....</b>	<b>6</b>
<b>V. Exploitation et enjeux économiques des algues au Maroc .....</b>	<b>7</b>
<b>VI. Constituants essentiels des algues marines et leurs activités biologiques .....</b>	<b>9</b>
1. Les éléments minéraux .....	9
2. Les fibres.....	10
3. Les protéines .....	10
4. Les lipides .....	11
4.1. Les classes de lipides dans les algues.....	11
4.1.1. Les phospholipides (PL).....	12
4.1.2. Les glycolipides.....	14
4.1.3. Les lipides neutres .....	15
4.2. Les activités biologiques des lipides .....	16
4.2.1. Activité antibactérienne.....	16
4.2.2. Activité anticancéreuse.....	17
5. Les composés phénoliques.....	18
6. Les alcaloïdes .....	19
7. Les caroténoïdes.....	20
8. Les vitamines .....	20

9. Les polysaccharides .....	20
<b>IV. Principales utilisation des algues marines.....</b>	<b>21</b>
1. L'utilisation des algues dans l'alimentation humaine.....	22
2. L'utilisation des algues dans l'alimentation animale.....	22
3. L'utilisation des algues dans la fabrication des produits de santé et de bien-être .....	22
4. L'utilisation des algues en tant que bioindicateurs .....	23
5. L'utilisation des algues en agriculture .....	23
<b>Chapitre II : Utilisation des algues marines dans la stratégie de lutte contre les agents phytopathogènes : cas de la pourriture molle de la pomme de terre .....</b>	<b>25</b>
<b>I. Généralités sur la pomme de terre.....</b>	<b>25</b>
<b>II. Exigences de la plante .....</b>	<b>25</b>
1. Exigences climatiques .....	25
1.1. Température.....	26
1.2. Lumière .....	26
1.3. Alimentation en eau.....	26
2. Exigences édaphiques .....	26
3. Exigences en éléments fertilisants .....	27
<b>III. Quelques chiffres sur la production de pomme de terre .....</b>	<b>27</b>
1. A l'échelle internationale .....	27
2. A l'échelle nationale .....	27
<b>IV. Facteurs influençant la production de la pomme de terre.....</b>	<b>28</b>
1. Facteurs abiotiques.....	28
2. Facteurs biotiques .....	28
2.1. Ravageurs .....	28
2.2. Maladies parasitaires .....	28
<b>V. La pourriture molle de la pomme de terre : <i>Pectobacterium</i> sp. ....</b>	<b>29</b>
1. Définition .....	29
2. Distribution géographique.....	30
3. Situation du <i>Pectobacterium</i> sp. au Maroc .....	31
4. Maladies de la pomme de terre liées aux <i>Pectobacterium</i> sp. ....	31
4.1. <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> .....	32
4.2. <i>Pectobacterium atrosepticum</i> .....	32

4.3. <i>Dickeya dadantii</i> .....	33
5. Conditions et facteurs de contamination des tubercules de pomme de terre .....	33
5.1. Rôle du tubercule dans la transmission et la dissémination .....	33
5.2. Rôle du sol et de la rhizosphère.....	34
5.3. Transmission par l'eau et les aérosols .....	34
5.4. Matériel et pratiques agricoles.....	35
5.5. Insectes .....	35
5.6. Au stockage .....	35
6. Mode d'action de la pourriture molle .....	36
7. Symptômes sur plante et sur tubercule .....	36
7.1. Symptômes sur les parties aériennes .....	36
7.2. Symptômes sur les tubercules .....	37
8. Stratégies de lutte contre les <i>Pectobacterium</i> sp.....	37
9. Mécanismes d'induction de la résistance au <i>Pectobacterium</i> sp. ....	39
9.1. Résistance systémique acquise (SAR, systemic acquired resistance) .....	39
9.2. Résistance systémique induite (ISR, induced systemic resistance).....	39
<b>VI. Action des extraits d'algues sur les plantes cultivées .....</b>	<b>40</b>
1. Amélioration de la germination des graines .....	41
2. Amélioration de la croissance des plantes et du rendement .....	41
3. Amélioration de la résistance accrue des plantes aux stress et maladies .....	42
4. Amélioration de la qualité des produits récoltés .....	45

**PARTIE II : Etude de la composition lipidique de 24 espèces d'algues marines et l'évaluation de l'activité antiproliférative de *Bifurcaria bifurcata***

<b>I. Matériel et Méthodes .....</b>	<b>47</b>
1. Récolte du matériel algal .....	47
2. Extraction des lipides totaux.....	48
3. Obtention des stérols et des acides gras totaux par saponification.....	48
3.1. Saponification .....	49
3.2. Acétylation de l'insaponifiable : Obtention des stérols acétylés .....	49
3.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG).....	49
3.4. Préparation des <i>N-acyl</i> pyrrolidides (NAP) .....	50
4. Recherche de l'activité antiproliférative.....	50
4.1. Principe .....	51

4.2. Protocole .....	51
5. Méthodes utilisées pour la recherche des fractions actives .....	53
5.1. Chromatographie sur colonne .....	53
5.1.1. Chromatographie sur silice.....	53
5.1.2. Chromatographie flash .....	54
5.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	54
5.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) .....	55
<b>II. Résultats et Discussion .....</b>	<b>56</b>
1. Contenu en lipides totaux .....	56
1.1. Les algues brunes .....	58
1.2. Les algues vertes .....	59
1.3. Les algues rouges .....	60
2. Saponification des lipides des algues étudiées .....	60
2.1. Distribution des acides gras totaux chez les différents groupes d'algues .....	61
2.1.1. Les algues brunes .....	65
2.1.2. Les algues rouges .....	66
2.2. Analyse des fractions insaponifiables (stérols).....	66
3. Fractionnement lipidique de l'extrait de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	68
3.1. Analyse des fractions des lipides neutres chez <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	69
3.2. Recherche des fractions responsables de l'activité antibactérienne de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	71
3.3. Analyse des fractions glycolipidiques chez <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	72
3.4. Recherche des fractions responsables de l'activité antiproliférative de <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	74
<b>III. Conclusion .....</b>	<b>79</b>

**PARTIE III : Etude de la possibilité d'utilisation des extraits d'algues  
marines en tant que bio pesticides**

**Cas de la pourriture molle de la pomme de terre**

<b>I. Matériel et Méthodes .....</b>	<b>81</b>
1. Récolte du matériel algal .....	81
2. Préparation des extraits d'algues .....	81
2.1. Extraction organique .....	81

2.2. Extraction aqueuse .....	81
3. Recherche de l'activité antibactérienne.....	82
3.1. Isolement et identification de la souche bactérienne utilisée.....	82
3.1.1. <i>Dickeya dadantii</i> .....	82
3.1.2. <i>Pectobacterium brasiliensis</i> 1347 ( <i>Erwinia carotovora</i> ).....	83
3.2. Test de l'activité antibactérienne .....	83
4. Effet des extraits d'algues sur la culture de la pomme de terre .....	84
4.1. Variété de la pomme de terre utilisée.....	84
4.2. Préparation de la suspension bactérienne pour l'inoculation des plantes .....	85
4.3. Traitement de la culture de pomme de terre par les extraits de différentes algues ....	85
4.4. Evaluation de la résistance induite chez la pomme de terre élicitée par les extraits d'algues contre la pourriture molle .....	87
4.4.1. Effet des extraits d'algues sur la croissance des plantes de pomme de terre .....	87
4.4.1.1. Morphologiques.....	88
4.4.1.2. Dosage de l'azote total .....	88
4.4.1.3. Dosage du nitrate .....	88
4.4.1.4. Dosage du phosphore.....	89
4.4.1.5. Dosage des sucres .....	89
4.4.1.6. Dosage des pigments .....	90
4.4.2. Effet des extraits d'algues sur l'activation des enzymes de défense chez les plantes de pomme de terre .....	90
4.4.2.1. Evaluation du stress oxydatif par dosage du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ).....	90
4.4.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la peroxydase (POX) .....	91
4.4.2.3. Extraction et dosage des polyphénol-oxydases (PPO) .....	91
4.4.2.4. Dosage des protéines .....	91
4.4.2.5. Extraction et dosage des composés phénoliques totaux (CPT) .....	92
a. Dosage des phénols .....	93
b. Dosage des tanins.....	93
c. Dosage des Flavonoïdes .....	93
<b>II. Résultats et Discussion.....</b>	<b>94</b>
1. Recherche des algues à potentiel antibactérien vis-à-vis de <i>Dickeya dadantii</i> et de <i>Pectobacterium brasiliensis</i> .....	94
1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	94
1.1.1. Les algues vertes .....	95

1.1.2. Les algues rouges .....	95
1.1.3. Les algues brunes .....	98
1.2. Discussion .....	99
2. Etude de la possibilité d'utilisation des extraits d'algues comme bio-pesticides contre la pourriture molle de la pomme de terre .....	100
2.1. Effet protecteur et fertilisant des extraits d'algues .....	101
2.1.1. Effet des extraits d'algues sur l'expression des symptômes de la pourriture molle de pomme de terre .....	101
2.1.1.1. Enroulement des feuilles .....	102
a. <i>Halopityis incurvus</i> .....	102
b. <i>Laminaria digitata</i> .....	103
c. <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	104
d. <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	104
e. <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	105
f. <i>Ellisolandia elongata</i> .....	106
2.1.1.2. Flétrissement ou jaunissement des feuilles .....	107
a. <i>Halopityis incurvus</i> .....	107
b. <i>Laminaria digitata</i> .....	108
c. <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	109
d. <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	110
e. <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	111
f. <i>Ellisolandia elongata</i> .....	112
2.1.1.3. Flétrissement des branches .....	113
a. <i>Halopityis incurvus</i> .....	113
b. <i>Laminaria digitata</i> .....	114
c. <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	115
d. <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	116
e. <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	117
f. <i>Ellisolandia elongata</i> .....	118
2.1.1.4. Incidence de brunissement des vaisseaux .....	119
a. Algues brunes .....	119
b. Algues rouges .....	121
2.1.1.5. Discussion .....	122
2.1.2. Effet des extraits d'algues sur la croissance des plantes de pomme de terre ....	124

a. <i>Halopitys incurvus</i> .....	124
b. <i>Laminaria digitata</i> .....	125
c. <i>Gracilaria cervicornis</i> .....	125
d. <i>Plocamium cartilagineum</i> .....	126
e. <i>Bifurcaria bifurcata</i> .....	127
f. <i>Ellisolandia elongata</i> .....	128
g. Discussion.....	129
2.1.3. Effet des extraits d'algues sur l'activation des enzymes de défense chez les plantes de pomme de terre .....	133
2.1.3.1. Evaluation de la teneur en composés phénoliques totaux : CPT .....	133
a. Algues brunes .....	134
b. Algues rouges.....	135
2.1.3.1.1. Evaluation de la teneur en flavonoïdes .....	138
a. Algues brunes .....	139
b. Algues rouges .....	140
2.1.3.1.2. Evaluation de la teneur en tanins .....	142
a. Algues brunes .....	143
b. Algues rouges .....	144
2.1.3.2. Evaluation de la teneur en peroxyde d'hydrogène : H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	146
a. Algues brunes .....	147
b. Algues rouges.....	148
2.1.3.3. Evaluation de l'activité enzymatique de polyphénol-oxydase : PPO.....	151
a. Algues brunes .....	152
b. Algues rouges.....	153
2.1.3.4. Evaluation de l'activité enzymatique de peroxydase : POX .....	156
a. Algues brunes .....	156
b. Algues rouges.....	157
2.1.3.5. Discussion.....	160
<b>III. Conclusion .....</b>	<b>164</b>
<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>166</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>168</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>190</b>

# **Introduction**

## **Générale**

Les océans et les mers représentent près des trois-quarts de la surface du globe et l'environnement marin est un écosystème unique en raison de la diversité des organismes qu'il abrite. Parmi ces organismes, les algues font preuve d'une incroyable richesse, (Radmer et Parker, 1994). Elles sont des végétaux beaucoup moins connus que les plantes terrestres et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie les milieux aquatiques, en particulier marins et sous-marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est très difficile de présenter de manière simplifiée.

La valorisation de la biomasse algale est considérée parmi les programmes internationaux les plus intéressants dans l'exploitation du milieu marin.

Les algues ont développé un répertoire chimique très diversifié, constituant une barrière contre de nombreux agresseurs biotiques et abiotiques. Elles produisent une quantité importante de métabolites secondaires tels que les polyphénols (acide phénolique, tanins, flavonoïdes), les pigments (fucoxanthines, astaxanthines et caroténoïdes), les alcaloïdes et les terpénoïdes qui jouent un rôle écologique et économique très important et représentent des pistes utiles dans le développement de nombreux domaines (Pohnert, 2004 ; Paul et *al.*, 2006 ; Blunt et *al.*, 2006). De plus, les algues marines contiennent des proportions relativement élevées en acide gras connus pour leur propriétés nutritionnelles et activité biologique très diverses.

La production de ces métabolites a considérablement augmenté durant ces dernières années, avec un nombre appréciable d'activités biologiques distinctes telles que l'activité antimicrobienne (Etahiri et *al.*, 2001, 2003 ; Smit, 2004 ; Bhakuni et Rawat, 2005 ; Blunt et *al.*, 2006 ; Etahiri et *al.*, 2007 ; Oumaskour et *al.*, 2012 ; Boujaber et *al.*, 2016), antivirale, antifongique, insecticide, cytotoxique, phytotoxique et antiproliférative (Bhakuni et Rawat, 2005 ; Kladi et *al.*, 2006 ; Machado et *al.*, 2010, 2011). Dix pourcents des substances actives développées à partir de substances naturelles ont été isolées à partir d'organismes marins (El Gamal, 2010 ; Fitzgerald et *al.*, 2011).

Dans le domaine agricole, la nécessité de mettre en place un système agricole durable, a favorisé de nombreuses initiatives visant à développer des méthodes alternatives pour se défendre contre les agents pathogènes, tels que les champignons et les bactéries. Parmi ces alternatives, l'utilisation d'agents de lutte biologique ou bio-pesticides qui a suscité un intérêt croissant en raison de leurs avantages écologiques afin de réduire l'utilisation de pesticides chimiques qui présentent plusieurs inconvénients tels que des résultats limités à moyen et à long terme en entraînant souvent la pollution de l'environnement, le ralentissement de la progression

de pathogène et non leur disparition totale, en plus de l'apparition de souches résistantes et l'augmentation de la quantité des résidus sur les aliments conduisant ainsi à des impacts négatifs sur la santé humaine.

La côte marocaine est particulièrement riche en biodiversité algale et constitue une réserve d'espèces avec un potentiel économique, social et écologique considérable. Cette richesse est due à la particularité des courants marins, la salinité et les conditions hydro-climatiques particulières qui favorisent le développement des algues marines.

Au Maroc, l'exploitation et la transformation des algues marines remontent à une cinquantaine d'années. L'abondance de cette ressource a permis d'installer une industrie de valorisation des algues limitée à l'exploitation de *Gelidium*.

La côte d'El Jadida présente une façade maritime importante qui s'étend sur plus de 40 km de longueur, cette situation géographique lui permet d'être parmi les sites les plus riches en algues de la côte atlantique marocaine. La flore algale d'El Jadida est essentiellement constituée par des algues de grande taille et présente une richesse très importante en alginophytes, en particulier le *Fucus* et les Laminaires qui constituent une ceinture presque continue le long de la côte. Le *Sargassum* très abondant couvre les cuvettes de la limite inférieure de médiolittoral et la partie supérieure de l'infralittoral. Cette région est également réputée par sa grande production en espèces agarophytes, en particulier le *Gelidium sesquipedale*, *Gelidium latifolium* et *Hypnea musciformis*.

Dans ce contexte, le présent travail, développé au Laboratoire de Biotechnologies Marine et de l'Environnement (BIOMARE), Equipe Biochimie Marine et Biotechnologies et en collaboration avec le Laboratoire Mer-Molécules-Santé (MMS) de l'Université de Nantes (France) a pour objectif l'étude des potentialités médicales et phytopathologiques de 24 algues marines abondantes sur la côte d'El Jadida et non exploitées à ce jour.

Ce travail est composé de deux parties, la première partie concerne l'étude des lipides totaux chez 24 espèces d'algues appartenant aux trois groupes (Phéophycées, Rhodophycées et Chlorophycées) en vue de leur valorisation nutritionnelle. Par la suite, six algues les plus abondantes et riches en lipides (*Bifurcaria bifurcata*, *Ellisolandia elongata*, *Plocamium cartilagineum*, *Gracilaria cervicornis*, *Halopitys incurvus* et *Laminaria digitata*) ont été choisies pour une étude plus approfondie. Finalement, notre choix s'est porté sur l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* qui représente une abondance très élevée sur notre côte, l'extrait lipidique de cette algue a été fractionné et les fractions lipidiques obtenues ont été testées pour leurs activités antiprolifératives contre deux lignées humaines de cancer du poumon NSCLC-N6 et A549. Des fractionnements et des purifications biodirigées selon différentes méthodes

biologiques et chimiques ont été réalisés afin de localiser la fraction active pour une éventuelle valorisation dans le domaine médical.

La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude de l'activité antibactérienne de ces mêmes espèces d'algues *in vitro* et *in vivo* contre la pourriture molle de la pomme de terre causée par *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi*) afin d'évaluer leur capacités phytosanitaire et la possibilité de leur utilisations comme bio-pesticide.

# **Partie I : Etude Bibliographique**

## **Chapitre I : Les algues marines et leurs valorisations**

### **I. Définition des algues marines**

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé «thalle» et est dépourvu de racine, de tige, de feuilles et de tissus conducteurs. Le thalle présente une grande diversité de formes allant de lames simples à des structures plus complexes semblables à des tubes, des tiges et des feuilles ou encore des boules remplies d'eau. La texture est également très variée : certaines algues sont gélifiées, voire de texture cartilagineuse ou spongieuse. Le nombre et le type de ramifications (insertion, organisation et hiérarchisation de ces ramifications par rapport à l'axe principal) sont des critères importants pour identifier les algues. Enfin, certaines algues présentent un thalle très rigide, suite à l'accumulation de carbonate de calcium ou aragonite, dans les parois de leurs cellules. Certaines algues rouges sont même presque entièrement calcifiées et forment des croûtes aussi dures que les rochers leur servant de support (Garon-Lardiere, 2004).

Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles). Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18 % du règne végétal (Ramade, 2009).

### **II. Classification des algues marines**

De nombreux critères écologiques, physiologiques ou biochimiques interviennent dans la phylogénie des algues comme les structures cellulaires, les caractéristiques structurales, la présence ou absence de flagelle, le mode de nutrition, l'habitat ou même la nature et la localisation des pigments chlorophylles et caroténoïdes. La nature des polymères de réserve synthétisés à la suite de la photosynthèse et sa situation à l'intérieur ou à l'extérieur du plaste est aussi une variable clé utilisée dans le classement des algues. Malgré une extrême diversité et complexité structurale, tant d'un point de vue macroscopique que microscopique, les algues peuvent néanmoins être classées en une dizaine d'embranchements (De Reviers, 2003).

Ces divers critères permettent de répartir les algues en quatre grands groupes : algues brunes, algues rouges, algues vertes et algues bleus, soit respectivement les Phéophycées, les Rhodophycées, les Chlorophycées, et les Cyanophycées comme les désignent les botanistes.

### **1. Les algues vertes : Chlorophycées**

Comme leur nom l'indique, les chlorophycées sont en principe des algues de couleur verte, celle-ci étant due à la nature de l'équipement pigmentaire contenu dans leurs chloroplastes. Cette couleur verte est quelque fois masquée par la présence des pigments de type carotène. C'est ainsi que quelques chlorophycées présentent une couleur rouge. Sous l'effet d'une forte insolation, d'autres peuvent devenir jaunâtres (Cabioc'h et *al.*, 1992).

Elles sont de formes très variées, uni-ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, auxquelles sont associés des carotènes et des xanthophylles.

La photosynthèse permet la formation d'amidon, comme pour les plantes supérieures.

La plupart des algues vertes vivent en eau douce ou en milieux marins, mais certaines espèces peuvent également se développer sur terre. Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale (Garon-Lardiere, 2004).

### **2. Les algues rouges : Rhodophycées**

Les rhodophytes ou algues rouges forment un groupe très diversifié. Elles se définissent par un ensemble de caractères communs : caractères cytologiques (structure des plastes) et biochimiques tel que la présence de chlorophylle a seule, masquée par des pigments surnuméraires qui sont la phycoérythrine et la phycocyanine et la présence d'un amidon extraplastidial particulier appelé amidon floridéen ou rhodamylon (Cabioc'h et *al.*, 1992). Ces algues doivent leur couleur à la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine est associée à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. La plupart de ces algues rouges sont pluricellulaires et marines, vivent et se développent en grande profondeur, allant de simples filaments microscopiques à des lames épaisses pouvant atteindre 1 m de long, mais il existe quelques formes unicellulaires et quelques-unes vivent également en eau douce (De Reviere, 2003). Elles se distinguent généralement par leur cycle de reproduction particulièrement complexe (Garon-Lardiere, 2004).

### **3. Les algues brunes : Phéophycées**

Les algues brunes sont à quelques rares exceptions des organismes purement marins et sont très largement distribuées à la surface du globe (Cabioc'h et *al.*, 1992 ; Garon-Lardiere, 2004). La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments chlorophylle a et c, ainsi que le bêta-carotène

(Lee, 1989 ; Garon-Lardiere, 2004). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens.

### **III. Répartition géographique des algues marines**

Sur plus de 3500 km de côtes marocaines, la répartition géographique des algues révèle la présence de 381 espèces sur la façade méditerranéenne et 323 espèces sur la côte atlantique. La distribution des algues marines sur le littoral et le long des côtes marocaines est étroitement liée à plusieurs paramètres écologiques tels que le substratum, la température de l'eau, la lumière, l'action des vagues, la salinité et le pH. Cette répartition est variable, que ce soit sur le long des côtes ou sur les profils côtiers où les algues se disposent en étages plus ou moins distincts selon l'influence de ces divers facteurs écologiques et principalement celle des marées.

Les profils côtiers peuvent influencer la répartition des algues en étages, surtout sur la façade méditerranéenne où les marées sont très faibles (entre 20 et 30 cm) et où les étages peuvent être confondus. Les algues peuvent s'installer dans tous les types d'habitat suffisamment humides et éclairés. On peut les retrouver en eau douce, en mer, sur des sols humides et même sur la neige. Les algues étant photosynthétiques, elles sont dépendantes de la présence de la lumière. De même, les algues nécessitent d'être fixées à un substrat et la texture, le degré de cohésion et la nature chimique du substrat ont par conséquent, une importance sur la répartition spatiale des différentes espèces (Gévaert, 2001).

### **IV. Composition algale de la région d'El Jadida**

La situation géographique de la côte d'El Jadida lui permet d'être parmi les sites les plus riches de la côte atlantique marocaine. Elle présente une façade maritime importante qui s'étend sur plus de 40 km de longueur. Ses eaux constamment renouvelées et enrichies en sels minéraux et en oxygène apportés par les courants, favorisent une production primaire très importante. La ceinture rocheuse de la côte est souvent interrompue par des plages qui sont formées de sable, clair et à gain de taille moyenne.

La biomasse algale est essentiellement constituée par des algues de grande taille ; le recouvrement des algues est presque total depuis la limite supérieure de l'horizon inférieur du médiolittoral jusqu'à l'infralittoral. A basse mer, les épaves s'accumulent dans les cuvettes de l'horizon supérieur du médiolittoral où elles constituent une biomasse très importante estimée

à 3 kg/m<sup>2</sup>. Après fermentation, ces épaves sont recyclées en sels minéraux et vont enrichir l'eau de mer.

Les ressources algales constituent un atout majeur pour la province d'El Jadida qui reste la zone d'exploitation la plus importante à l'échelle nationale réputée pour ses 150 km de côtes très riches en algues. Les quantités débarquées, composées essentiellement d'algues rouges, dépassent, selon les chiffres officiels, les 8.000 tonnes sèches par an, alors que normalement ces quantités ne doivent pas dépasser les 5.000 tonnes durant la même période (MPM, 2013). La flore algale d'El Jadida présente une richesse très importante en alginophytes, en particulier le *Fucus* et les Laminaires qui constituent une ceinture presque continue le long de la côte de la région d'étude. Le *Sargassum* très abondant couvre les cuvettes de la limite inférieure de médiolittoral et la partie supérieure de l'infralittoral. Cette région est également réputée par sa grande production en espèces agarophytes, en particulier le *Gelidium sesquipedale*, *Gelidium latifolium* et *Hypnea musciformis*.

Le recensement de la flore marine réalisé par Berday (1989) a permis d'établir une liste de 143 espèces appartenant aux trois groupes : 95 Rhodophycées, 25 Phéophycées et 23 Chlorophycées.

## **V. Exploitation et enjeux économiques des algues au Maroc**

Au Maroc, l'exploitation et la transformation des algues marines remontent à une cinquantaine d'années, contrairement aux pays d'Extrême-Orient ou dans une moindre mesure à l'Europe, il n'y avait pas une tradition d'utilisation des algues dans l'alimentation humaine ou animale ou dans les divers domaines industriels.

L'exploitation des algues a démarré sous l'impulsion des européens : des Espagnols à Larache puis à El Jadida pour l'exploitation de *Gelidium sesquipedale* et des Français sur Essaouira pour les Laminaires. L'exploitation de *Gelidium* a connu une évolution rapide, elle a débuté au Maroc en 1949 et elle est orientée vers l'exportation de l'agar ou gélose. L'agar est un produit essentiellement extrait à partir des espèces de *Gelidium sesquipedale* et *Gelidium spinulosum* qui représente 95 % de la collecte des algues marines (*Gelidium sesquipedale* représente à lui seul 90 %) (Faraj, 1987). Ce secteur emploie 700 personnes à plein temps, fournit un travail saisonnier à 8000 personnes et réalise un chiffre d'affaires de plus de 180 millions de Dhs. La production nationale des algues marines a évolué de 8525 tonnes en 1999 à 14870 tonnes d'algues sèches en 2006. Par le volume de ses expériences et par la qualité du produit extrait (agar-agar), le Maroc est actuellement classé parmi les principaux producteurs

mondiaux avec 1095 tonnes d'agar agar et 200 millions de Dhs comme chiffre d'affaire (Rapport National du Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime, 2012). La majeure partie des algues récoltée et qui est fournie à l'industrie de transformation provient de la zone maritime d'El-Jadida et Jorf Lasfar (Hanif et *al.*, 2014).

Par la qualité de ces produits et par la capacité d'innovation (création de nouveaux produits ou utilisation des agars dans de nouvelles applications), l'industrie marocaine bénéficie d'une bonne image de marque sur les marchés internationaux (Rapport National du Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime, 2015). Ce secteur représente plus de 3 % en valeur des exportations des produits de la mer, ce qui place cette branche d'activité devant les crustacés au niveau national (Source Ministère des Pêches maritimes). Cette industrie est l'une de celles qui assurent le plus fort taux de valorisation parmi les industries de transformation des produits de la mer (Mouradi et *al.*, 2006).

Le Maroc, de part sa situation géographique privilégiée (plus de 3500 km de côtes) et les conditions hydrologiques favorables lui permettent d'être parmi les cinq zones connues dans le monde, où se manifestent des phénomènes d'upwelling (Makaoui et *al.*, 2005) et d'autre part, par un ensoleillement s'étendant sur presque toute l'année, des côtes rocheuses diversifiées et encore peu dégradées, et qui se caractérisent par une richesse algale considérable dont l'intérêt écologique et économique est important (Feldmann, 1955). En effet, les macrophytes jouent un rôle primordial dans l'équilibre des écosystèmes et leur exploitation contribue au développement économique du pays. La principale zone d'exploitation est la région d'El Jadida qui a assuré à elle seule 80 % de la production nationale d'agar-agar par an (MPM, 2015).

La particularité des courants marins, la salinité et les conditions hydro-climatiques particulières favorisent le développement des algues marines (Riadi, 1998). L'abondance de cette ressource a permis d'installer dès les années 50 une industrie de valorisation des algues. En effet, ce secteur emploie plus de 500 000 personnes à plein temps, fournit un travail saisonnier à 9 000 personnes et réalise un chiffre d'affaires de près de 170 millions de Dhs (Rapport National du Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime, 2012).

Par ses richesses et ses potentialités économiques, la côte marocaine est la mieux destinée pour jouer un rôle dans le développement de l'économie nationale. Les algues marines constituent une source importante de produits utilisés par l'Homme pour son alimentation et pour diverses applications industrielles. Elles contribuent ainsi au développement des activités socio-économiques mondiales, ainsi l'industrie des algues a augmenté de 26 % entre 1993 et 2002 (Mchugh, 2003 ; FAO, 2004).

Les algues sont surtout récoltées pour l'exportation, vu le prix élevé auquel les acheteurs étrangers les procurent (15 Dhs le Kg), alors que les industries de transformation locales proposent 8 Dhs le kilogramme.

La principale espèce d'algue marine exploitée localement est *Gelidium sesquipedale*, une algue rouge qui se trouve sur les côtes atlantiques marocaines, un biotope idéal pour son développement. Elle est considérée comme l'une des meilleures matières premières pour l'extraction de l'agar-agar. D'autres espèces sont également exploitées telles que : *Gigartina* qui représente 5 %, *Pterocladia* 0,5 % et *Gracilaria* qui représente 0,5 % également.

Ces ressources naturelles qui jouent un rôle important dans l'économie marocaine ont un apport en micro-éléments, vitamines et acides aminés qui mérite d'être exploité dans différents secteurs comme le domaine médical et thérapeutique ou dans l'agriculture comme fertilisants ou bio-pesticides.

## **VI. Constituants essentiels des algues marines et leurs activités biologiques**

Les algues jouent un rôle écologique et économique très important. Elles sont des sources potentielles de métabolites secondaires d'un grand intérêt pharmacologique, médicinal, agricole et industriel. Ces molécules représentent des pistes utiles dans le développement de nombreux domaines.

La composition chimique des algues diffère d'une espèce à l'autre et change selon la géographie (l'habitat naturel), les saisons, l'âge et l'état physiologique (stade de maturité) (Ortiz et al., 2006).

Les algues présentent des potentialités nutritionnelles diversifiées et très riches, celles-ci peuvent être justifiées par : la présence de protéines en général bien équilibrée en acides aminés et présentes en quantités non négligeables chez certaines espèces. La présence d'une fraction minérale abondante et variée qui constitue un apport très important de macroéléments et d'oligoéléments, la présence de fibres ayant des structures variées et originales différentes des fibres des végétaux terrestres et enfin, la présence d'un contenu vitaminique varié (Zitouni, 2015).

### **1. Les éléments minéraux**

Les algues puisent dans la mer une richesse très importante d'éléments minéraux très variés. La teneur en minéraux varie entre 8 et 40 % de la masse sèche (MacArtain et al., 2007).

Cette fraction minérale offre d'abord une grande diversité de macroéléments comme le sodium, le calcium, le magnésium, le potassium, le chlore, le soufre et le phosphore, mais également d'oligo-éléments tels que l'iode, le fer, le zinc, le cuivre, le sélénium et le molybdène, ainsi que d'autres oligoéléments comme le fluor, le manganèse, le bore, le nickel et le cobalt (Marfaing, 2004 ; MacArtain et *al.*, 2007). Selon certains auteurs, les algues rouges et les algues brunes sont plus riches en matières minérales totales que les végétaux terrestres (Marfaing, 2004). Un apport quotidien en algues (~ 25 g) peut satisfaire les besoins minéraux d'un adulte (Gebhardt et Thomas, 2002).

## **2. Les fibres**

Les algues contiennent des teneurs en fibres totales semblables ou légèrement élevées par rapport aux aliments terrestres (MacArtain et *al.*, 2007), ces fibres représentent une diversité importante représentée essentiellement par l'agar agar, les carraghénanes, les xylanes, l'alginate, le fucane, le laminarane, et l'ulvane (Chouikhi, 2013). Les algues contiennent 35 % de fibres, efficaces contre la paresse intestinale. La consommation d'algues peut favoriser des effets physiologiques bénéfiques, apportent de l'énergie, favorise le mouvement du matériel à travers le système digestif, augmente le volume des selles, soulage la constipation et les selles irrégulières et dissolvent l'excès de graisses grâce à l'élément spécifique de l'algue qui est l'algine, un composé glucidique à caractère mucilagineux. Cette substance exerce une attraction sur les toxines du corps, dont les métaux lourds et contribue à un bon transit intestinal. Les fibres alimentaires contribuent ainsi à faire baisser le taux de cholestérol dans le sang et permettent de réduire les besoins en insuline (MacArtain et *al.*, 2007 ; Mouradi et *al.*, 2008 ; Mišurcová et *al.*, 2010).

## **3. Les protéines**

Les algues renferment des protéines en quantité variable caractéristiques d'un groupe particulier d'algue (Chouikhi, 2013). La teneur en protéines des algues marines varie fortement entre les espèces et dépend des saisons et des conditions environnementales (De Oliveira et *al.*, 2009).

Généralement, la fraction protéique des macroalgues brunes est faible (3 à 15 %) de la matière sèche comparée à celle des macroalgues vertes et rouges (10-47 %). Les contenus protéiques élevés sont observés durant les périodes de fin d'hiver et de printemps et les faibles quantités sont observées durant les mois d'été (Fleurence, 1999).

Les algues rouges possèdent un pigment protéique, la R-Phycoérythrine (R-PE) dont les caractéristiques spectrales particulières sont valorisés dans des domaines variés tels que la biomédecine comme antitumoraux (Fitzgerald et *al.*, 2011), antioxydants (Fitzgerald et *al.*, 2011 ; Pangestuti et Kim, 2011), antidiabétiques, immunosuppresseurs et antihypertensifs (Cian et *al.*, 2012) et dans l'agroalimentaire comme colorant.

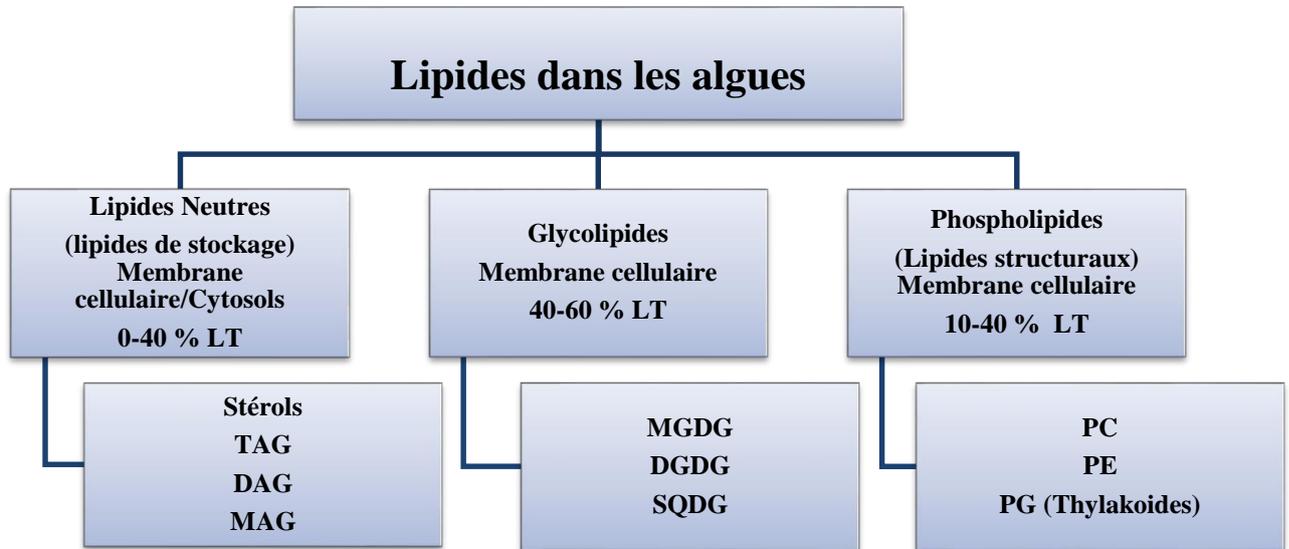
#### **4. Les lipides**

La teneur lipidique des algues diffère de celle des végétaux terrestres, elle est très faible et varie de 1 à 3 % de la matière sèche. Les algues contiennent une proportion importante en acides gras essentiels, les acides gras polyinsaturés présentent des niveaux significativement plus élevés qui agissent comme des antioxydants puissants, tels que les oméga 3 et les oméga 6 qui ont différents rôles dans la prévention des maladies cardiovasculaires, l'arthrose et le diabète, alors que les acides gras insaturés sont prédominants (Khotimchenko, 2003 ; Mendis et Kim, 2011). Ces lipides sont caractérisés principalement par des acides gras saturés et monoinsaturés, mais de nombreuses algues présentent le potentiel d'accumuler des acides gras polyinsaturés (AGPI) à longue chaîne (Khozin-Goldberg et *al.*, 2000 ; Khozin-Goldberg et Boussiba, 2011).

La composition en acides gras des algues vertes est la plus proche de celle des végétaux supérieurs, elles ont une teneur beaucoup plus élevée en acide oléique (C18:1) et en acide alpha-linolénique ( $\alpha$ 3-C18:3) (Marfaing, 2004). Les algues rouges contiennent des taux élevés d'acides gras polyinsaturés à 20 carbones. L'acide eicosapentaénoïque (EPA) en particulier représente 50 % des acides gras polyinsaturés chez *Porphyra* sp. et *Palmaria palmata* (Marfaing, 2004). On note aussi la présence des oxylipines, qui sont des dérivés oxygénés des acides gras et qui jouent un rôle très important dans la régulation de la différenciation cellulaire, des réponses immunitaires et de l'homéostasie (Gerwick et *al.*, 1999).

##### **4.1. Les classes de lipides dans les algues**

Chez les algues, les lipides sont divisés en trois classes : les lipides neutres, les glycolipides, les phospholipides (Fig. 1).



**Figure 1** : Classification des lipides dans les algues

**DAG** : Diacylglycerols ; **LT** : Lipides totaux ; **MAG** : Monoacylglycérols ; **MGDG** : Monogalactosyldiacylglycérols ;  
**DGDG** : Digalactosyldiglycérols ; **SQDG** : Sulfoquinovosyldiacylglycérol ; **PC** : Phosphatidylcholines,  
**PE** : Phosphatidyléthanolamines ; **PG** : Phosphatidylglycérols ; **TAG** : Triacylglycérols.

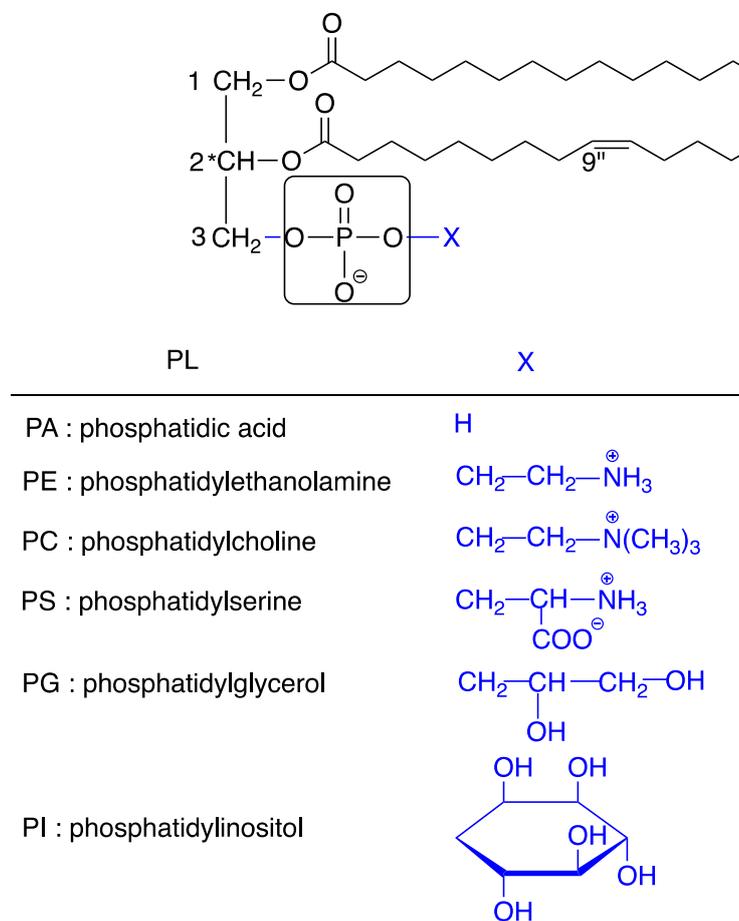
Les lipides neutres à savoir les stérols, les triacylglycérols, les diacylglycérols et les monoacylglycérols se retrouvent principalement dans la membrane cellulaire et les cytosols atteignant jusqu'à 40 % des lipides totaux. Les glycolipides peuvent atteindre jusqu'à 60 % des lipides totaux et sont représentés par des monogalactosyldiacylglycérols, des digalactosyldiglycérols et des sulfoquinovosyldiacylglycérol. Les phospholipides sont des lipides structuraux et se localisent généralement dans la membrane cellulaire. Ils représentent jusqu'à 40 % des lipides totaux et sont principalement des phosphatidylcholines, des phosphatidyléthanolamines et des phosphatidylglycérols.

#### 4.1.1. Les phospholipides (PL)

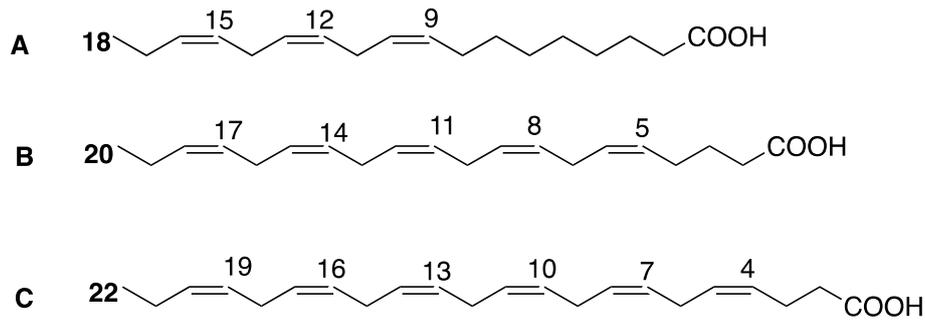
Les phospholipides sont les composants principaux de toutes les membranes cellulaires et forment des bicouches lipidiques dans les cellules (Eastmond et *al.*, 2010). Ils jouent des rôles structurels et métaboliques importants dans les cellules vivantes (Dowhan et Bogdanov, 2002).

Les phospholipides représentent 10-20 % des lipides totaux dans les algues (Dembitsky et Rozentsvet, 1996). Chez les algues vertes le PG est le phospholipide dominant, il représente 20 à 47 % des phospholipides. Le PC représente une valeur supérieure à 60 % de PL chez les algues rouges, tandis que le PC et PE sont prédominants chez les algues brunes avec une valeur

qui varie de 11,3 % à 29,3 % de PL (Fig. 2). Ces derniers se localisent dans les membranes extra-chloroplastiques, à l'exception de PG qui se produit en quantités importante dans les membranes thylakoïdes. Les membranes cellulaires utilisent la nature amphiphile des phospholipides pour maintenir la structure de l'intégrité et la perméabilité sélective tandis que le PG aide les glycolipides à la stabilité de l'appareil photosynthétique (Dembitsky et Rozentsvet, 1996 ; Illijas et *al.*, 2009). Les phospholipides sont caractérisés par la présence des principaux acides gras qui sont : l'acide oléique, l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide arachidonique (C20:4 n-6, AA) et l'acide eicosapentaénoïque (C20:5 n-3, EPA) (Tremolieres et Siegenthaler, 1998) (Fig. 3).



**Figure 2 :** Structure chimique de phospholipides des algues.



**Figure 3** : Structure chimique des principaux acides gras poly-insaturés oméga 3 des algues : l'acide alpha-linoléique ALA (**A**), l'acide eicosapentaénoïque EPA (**B**), l'acide docosahexaénoïque DHA (**C**)

#### 4.1.2. Les glycolipides

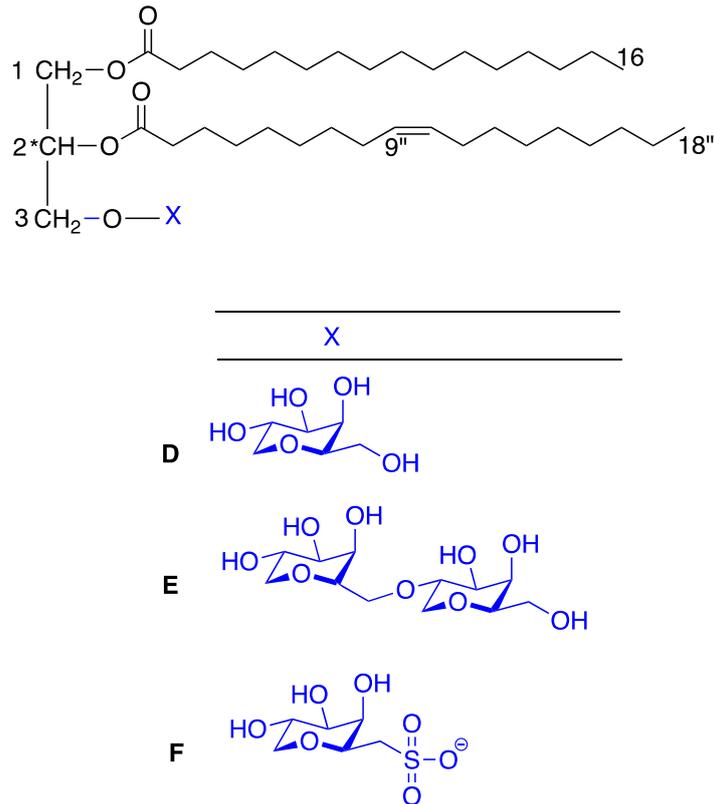
Les glycolipides sont principalement situés dans les membranes photosynthétiques, représentés par les MGDG, SQDG et DGDG.

Les MGDG et SQDG leur présence est strictement limitée aux membranes des thylakoïdes du chloroplaste, tandis que les DGDG se localisent également dans les membranes extraplastidiales (Guskov *et al.*, 2009) (Fig. 4).

Ces glycolipides constituent plus que la moitié des lipides, représentés par les MGDG avec 31-56 % (Khotimchenko, 2003 ; Yan *et al.*, 2011). Chez certaines algues rouges les DGDG étaient le glycolipide caractéristique qui représente 35,7-64 % des lipides totaux (Khotimchenko, 2003 ; Illijas *et al.*, 2009), alors que chez les algues brunes les SQDG présentaient une teneur variant entre 36,8 et 48,8 % (Kunotimenko, 2003).

En outre, chez les algues vertes les MGDG et DGDG contiennent de l'acide hexadécatétraénoïque (C16:4n-3), de l'acide  $\alpha$ -linoléique (ALA), de l'acide stéaridonique (C18:4n-3, STA) et de l'acide linoléique (C18:2n-6, LA). Chez les algues rouges ils contiennent de l'AA (acide arachidonique) et de l'acide eicosapentaénoïque (EPA), alors que ces deux compositions se trouvent chez les algues brunes. Les SQDG contiennent de l'acide palmitique et de l'acide oléique comme acides gras principaux (Khotimchenko, 2003 ; Illijas *et al.*, 2009).

Ces glycolipides se révèlent indispensables à l'assemblage et à la régulation fonctionnelle de la PSII (photosystème II) (Mizusawa et Wada, 2012).



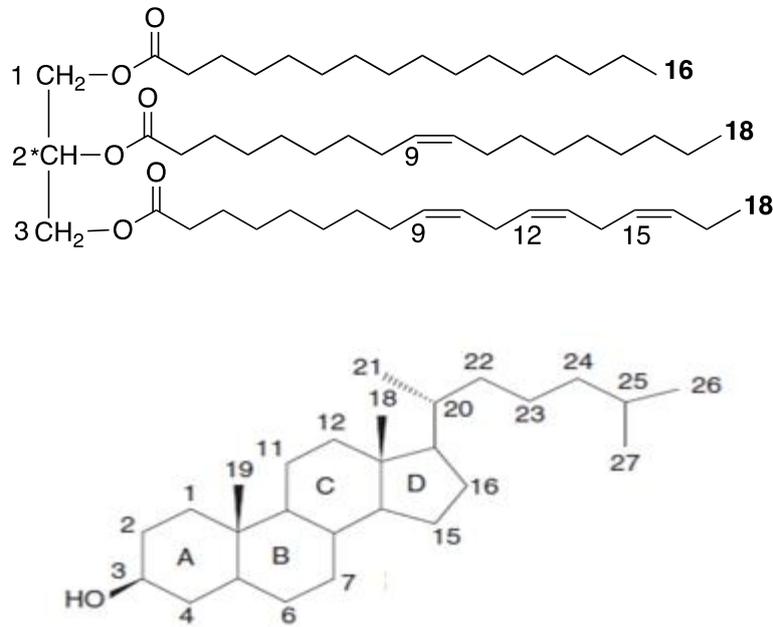
**Figure 4** : Structure chimique des principaux glycolipides des algues marines : le monogalactosyldiacylglycerol MGDG (**D**) ; le digalactosyldiacylglycerol DGDG (**E**) et le sulfoquinovosyldiacylglycerol SQDG (**F**)

#### 4.1.3. Les lipides neutres

Les lipides neutres sont représentés principalement par les triacylgcérols et les stérols (Fig. 5). Le triacylgcérol (TAG) est le lipide neutre le plus répandu chez les algues, il est considéré comme un produit de stockage et un réservoir d'énergie. Sa teneur varie entre 1 % et 97 % (Dembitsky et Rozentsvet, 1996 ; Illijas et *al.*, 2009). Ces lipides neutres riches en PUFA qui agissent comme réservoirs pour les AG sont synthétisés en présence de la lumière, puis sont stockés dans des corps lipidiques cytosoliques pour être réutilisés dans la synthèse des lipides polaires en obscurité (Khozin-Goldberg et *al.*, 2000).

Les stérols se définissent comme des composants structuraux des membranes cellulaires, ils sont omniprésents dans tous les organismes eucaryotes, permettant de réguler la perméabilité et la fluidité des membranes. Le cholestérol est le stérol dominant chez les algues rouges, le fucostérol chez les algues brunes, tandis que le stérol dominant semble varier dans les ordres chez les algues vertes (l'isofucostérol chez les Ulvales ; le clionastérol chez les Bryopsidales et les Siphonocladales) (Al Easa et *al.*, 1995).

Ces stérols d'algues possèdent des effets bénéfiques sur la santé, tels que les réponses hypercholestérolémiques, antioxydantes, anticancéreuses, antidiabétiques, antihypertenseurs, anti-inflammatoires et anticancéreuses (Kim et Ta, 2011).



**Figure 5 :** Structure chimique d'un triacylgcérol et du squelette de base des stérols des algues marines

#### 4.2. Les activités biologiques des lipides

Des études ont montré que le milieu marin constitue une source intéressante de lipides bioactifs présentant un intérêt potentiel dans tous les domaines (Watkins et *al.*, 2001). Ces substances marines présentent diverses potentialités thérapeutiques (molécules antitumorales, antibiotiques, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires, immunomodulatrices etc.) qui ne cessent de croître.

##### 4.2.1. Activité antibactérienne

Les algues représentent une source précieuse d'un large éventail de lipides complexes avec différentes applications potentielles (Silva et *al.*, 2013).

Les phospholipides des algues (PG, PE et PC) possèdent diverses activités biologiques telles que les activités antibactériennes, antivirales et antitumorales (Dumay et *al.*, 2006 ; Abd El Baky et *al.*, 2014).

Un galactoglycérolipide a été caractérisé par une activité antimicrobienne importante. Il contribue à la formation de lipoprotéines dans le foie, la conduction et la protection du système nerveux, le stockage de la mémoire et le contrôle musculaire. La choline, présente dans la PC et la sphingomyéline, fonctionne comme donneur de méthyle et précurseur du neurotransmetteur acétylcholine (Holdt et Kraan, 2011).

Selon Abd El Baky *et al.* (2014), les phospholipides d'*Ulva fasciata* possèdent une activité antibactérienne importante variant de 18 mm à 21 mm contre *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*, respectivement pour une concentration de 100 µg/mL. Alors que ceux de *Taonia atomaria* et *Galaxoura cylindriea* ont un effet antibactérien relativement moindre. Les phospholipides d'*Ulva fasciata*, *Taonia atomaria* et *Galaxoura cylindriea* ont montré une activité antibactérienne plus importante avec une CMI (concentration minimale inhibitrice) de 40 à 80 µg/mL contre *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli*. De même Ramadan *et al.* (2008) ont constaté que les phospholipides de *Spirulina platensis* inhibaient la croissance de tous les microorganismes testés (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*) à une concentration de 100 µg/mL, à l'exception du *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* qui n'ont montré aucune activité.

De même, les phospholipides de *Taonia atomaria* montrent une activité antifongique contre *Aspergillus niger* et inhibe la croissance de *Candida albicans*. *Taonia atomaria* présente une grande activité antimicrobienne avec une CMI de 80 µg/mL contre *Aspergillus niger* et de 60 µg/mL contre *Candida albicans* (Abd El Baky *et al.*, 2014).

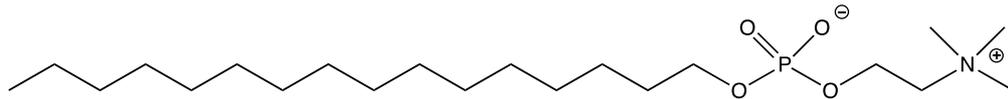
#### **4.2.2. Activité anticancéreuse**

De nombreux lipides marins possèdent une activité antitumorale, des études ont montré qu'une baisse de la cachexie des patients atteints d'un cancer du côlon est observée lors d'une supplémentation en AGPI, ces acides gras possèdent une activité antitumorale sur les cellules de carcinome (Kuratko et Becker, 1998). Certains glycérolipides et phosphoglycolipides possèdent aussi une action antitumorale contre la leucémie en inhibant l'incorporation de la choline dans la phosphatidylcholine humaine (Colombo *et al.*, 1999).

Des acides gras de la famille des oméga-3 ont montré la capacité de stopper la production des eicosanoïdes (Ishihara *et al.*, 1998). Les sulfolipides induisent l'inhibition de l'ADN polymérase a et b de mammifère, donnant ainsi lieu à une action antiproliférative sur des lignées de cellules cancéreuses humaines (Hanashima *et al.*, 2000).

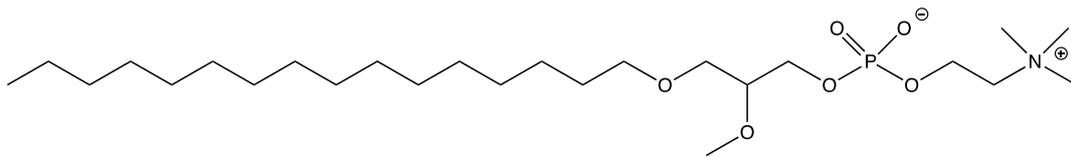
Les phospholipides sont considérés comme les lipides les plus actifs contre les cellules tumorales du fait de leurs divers rôles dans le métabolisme cellulaire et leur participation dans la composition de la membrane cellulaire (Arnoult et *al.*, 2001).

L'interférence de la Mitelfosine (hexadécylphosphocholine) avec les lipides membranaires, leur confère des activités biologiques à finalité antitumorale ou cytotoxique par la synthèse de la phosphatidylcholine couplée à celle de la sphingomyéline et à une apoptose des métastases cutanées et des carcinomes mammaires (Thaler et *al.*, 2000).



Mitelfosine

Cette fonction antiproliférative est aussi démontrée pour l'Edelfosine induisant une inhibition dose dépendante de la protéine kinase C sur des cellules de leucémie et l'apoptose des cellules cancéreuses (Gajate et *al.*, 2000).



Edelfosine

## **5. Les composés phénoliques**

Ce sont des dérivés non azotés dont le ou les cycles aromatiques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie du shikimates et celle de l'acétate (Crozier et *al.*, 2006).

Les composants phénoliques sont des molécules biologiquement actives largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti radicalaires et antimicrobiens (Bruneton, 1993).

Les composés phénoliques en particulier sont considérés comme l'une des classes les plus importantes chez les algues. Leurs molécules sont formées par un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle. Chimiquement, les polyphénols peuvent être divisés en plusieurs classes, telles que les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinnamiques), les flavonoïdes (flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, anthocyanes), les isoflavonoïdes (isoflavones, coumestans), les stilbènes, les lignanes et les polymères phénoliques (proanthocyanidines, tanins condensés et tanins hydrolysables) (Manach et *al.*, 2004). Leurs concentrations diffèrent selon de nombreux facteurs (génétique, environnemental, technologique, etc.) ; généralement, les acides phénoliques représentent un

tiers de l'apport total et les flavonoïdes pour les deux tiers restants, où les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation sont des flavanols, anthocyanines et leurs produits d'oxydation (Manach et *al.*, 2004).

En général, leur fonction principale dans les végétaux est de protéger contre les rayonnements ultraviolets et les pathogènes (Manach et *al.*, 2004). D'autres rôles incluent la pigmentation, la reproduction et la croissance des plantes (Zern et Fernandez, 2005). Les composés phénoliques présents dans les algues comprennent également les phlorotannins présents dans les algues brunes et des quantités plus faibles dans certaines algues rouges.

Récemment, ils sont devenus des constituants très courants de l'alimentation humaine et ont reçu un intérêt croissant de la part des consommateurs et aussi des fabricants d'aliments pour de nombreuses raisons (Manach et *al.*, 2004). Ils peuvent inhiber la prolifération des cellules cancéreuses (Shibata et *al.*, 2002), réduire la vascularisation, protéger les neurones contre le stress oxydatif, stimuler la vasodilatation et améliorer la sécrétion d'insuline. Ce sont des chemopréventifs vasculaires (Hwang et *al.*, 2006), des antimicrobiens (Etahiri et *al.*, 2001,2003 ; Etahiri et *al.*, 2007 ; Oumaskour et *al.*, 2012 ; Franz et *al.*, 2012 ; Boujaber et *al.*, 2016) et inhibiteurs de l' $\alpha$ -Glucosidase (Apostolidis et Lee, 2010).

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides. Ils existent également sous forme de polymères naturels (Crozier et *al.*, 2006).

## **6. Les alcaloïdes**

La recherche sur les médicaments marins s'est principalement concentrée sur la recherche de médicaments pour le traitement du cancer.

Les alcaloïdes présents dans les algues marines sont divisés en trois groupes : alcaloïdes phényléthylamine, indole et alcaloïdes indoliques halogénés. Les alcaloïdes isolés des algues marines pour la plupart appartiennent à des groupes de la phényléthylamine et de l'indole. Les activités biologiques de ces alcaloïdes n'ont pas été complètement étudiées. Les alcaloïdes des algues marines sont relativement rares, comparés aux alcaloïdes végétaux terrestres, ils possèdent des activités antibactériennes, anti-inflammatoires, antioxydantes, antitumorales et ont donc de grandes utilisations dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques. Deux dérivées : Lophocladine A et Lophocladine B ont été isolées d'une algue rouge *Lophocladia* sp. collectées sur de l'île Fidjienne, Nouvelle-Zélande, leur activité anticancéreuse a été démontrée avec succès contre les tumeurs pulmonaires humaines, les

lignées de cellules cancéreuses du sein et contre diverses lignées cellulaires cancéreuses (Jin et *al.*, 2014).

### **7. Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes algaux sont de puissants antioxydants, ils représentent en moyenne 0,1 % du poids sec de l'algue, mais certaines espèces, dans certaines conditions environnementales, en produisent beaucoup plus. Les algues brunes sont particulièrement riches en caroténoïdes et notamment en fucoxanthine,  $\beta$ -carotène et violaxanthine. Les principaux caroténoïdes des algues rouges sont le  $\beta$ -carotène, l' $\alpha$ -carotène et leurs dérivés dihydroxylés, zéaxanthine et lutéine. Pour les algues vertes, les principaux caroténoïdes sont le  $\beta$ -carotène, l' $\alpha$ -carotène et leurs dérivés dihydroxylés, siphoxanthine, violaxanthine, nexanthine et lutéine (Takaichi, 2011).

### **8. Les vitamines**

Les algues sont très riches en vitamines protectrices comme les vitamines A, B, C et E avec de grandes variations saisonnières. Les algues rouges sont riches en vitamine A, par contre, les algues vertes sont riches en vitamines C. La vitamine E est bien présente dans les algues brunes. L'intérêt principal réside dans la vitamine B12 dont les teneurs sont assez importantes dans les algues contrairement aux plantes terrestres qui en sont totalement dépourvues (Rajapakse et Kim, 2011).

Les espèces comme *Undaria pinnatifida* et *Gracilaria* contiennent respectivement 1,16 mg de vitamine C et 5,4 mg de  $\beta$ -carotène. Ces vitamines et ces pigments sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes (MacArtain et *al.*, 2007 ; O'Sullivan et *al.*, 2010).

### **9. Les polysaccharides**

Les polysaccharides forment un groupe hétérogène de polymères de compositions multiples et variées et de longueurs différentes. Ils sont construits à partir d'un ou plusieurs types de molécules monosaccharidiques liées entre elles par des liaisons glycosidiques. Ils sont caractérisés par un degré de polymérisation bien déterminé et un type de liaison entre les monomères (Ignat, 2012).

Les polysaccharides algaux forment une vaste famille au sein de laquelle on distingue :

- Les polysaccharides de réserve stockés à l'intérieur de la cellule, il s'agit de la laminarine (polymère du 1,3- $\beta$ -glucopyranose) chez les algues brunes, de l'amidon floridéen

(polymère du 1,4- $\alpha$ -glucose) chez les algues rouges et du glucane (polymère du 1,4- $\beta$ -glucose) chez les algues vertes.

- Les polysaccharides de faible poids moléculaire présents chez plusieurs espèces. Chez les algues rouges, le floridoside et l'isofloridoside sont des isomères participants à la régulation osmotique. Chez les algues brunes, un type particulier de saccharide sous forme de polyols est présent chez plusieurs espèces. Le D-mannitol représente jusqu'à 25 % du poids sec de l'algue. Enfin, les algues vertes comportent des traces de monosaccharides tels que le fructose ou le saccharose.
- Les polysaccharides de structure appelés aussi des polysaccharides pariétaux, comprennent une phase squelettique uniquement de structure et constituée de polysaccharides insolubles (cellulose, mannanes, xylanes) et une phase matricielle spécifique à chaque type d'algue contenant des polysaccharides de structure plus hydrosolubles noyés dans la matrice (ou zone amorphe), dans laquelle ont lieu les échanges cationiques.

Les polysaccharides sont devenus aujourd'hui une source importante de composés naturels bioactifs responsables de plusieurs activités biologiques. Ils montrent des activités anti-tumorales, anticoagulantes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antivirales y compris contre les virus de l'hépatite et l'infection VIH (Aguilar-Briseño et *al.*, 2015). En règle générale, l'activité biologique des polysaccharides est liée à leur composition différente et surtout à la sulfatation de leurs molécules. Les polysaccharides sont les alginates, les agars, les carraghénanes, les ulvanes et les fucoïdiens qui sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique et également dans d'autres branches de l'industrie (Amorim et *al.*, 2012).

Les algues sont riches en polysaccharides particulièrement les phycocolloïdes qui présentent 18 à 45 % chez les algues brunes, ce groupe comprend les alginates et les carraghénanes (Jiao et *al.*, 2011).

#### **IV. Principales utilisation des algues marines**

Au cours des dernières années, de nombreux pays se sont intéressés aux algues pour satisfaire leurs besoins nutritionnels et économiques par la recherche de nouvelles applications dans divers domaines (El Gamal, 2010).

### **1. L'utilisation des algues dans l'alimentation humaine**

Les algues ont été d'abord utilisées depuis très longtemps par l'Homme pour son alimentation dans les pays occidentaux et en Extrême-Orient. Au Japon, certaines algues alimentaires comme *Porphyra*, *Ulva lactuca* et *Undaria pinnatifida* font l'objet de véritables cultures. D'autres sont utilisées sous forme de compléments ou d'additifs alimentaires, cas des Gigartinales (Chopin et Whalen, 1993 ; De Reviers, 2003).

Dans le domaine de l'agroalimentaire, les algues jouent un rôle important en fournissant des gélifiants comme les carraghénanes et les alginates. Les alginates, extraits d'algues brunes laminaires, sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire en raison de leur forte capacité de gélification. En effet, les extraits d'algues accompagnent notre quotidien comme additifs texturants (gélifiants, épaississants, stabilisants) utilisés entre autre dans les crèmes, les flans, les soupes et les charcuteries (Person, 2010).

### **2. L'utilisation des algues dans l'alimentation animale**

Traditionnellement, dans de nombreuses régions côtières notamment en Europe du Nord, les animaux de fermes ont été habitués à se nourrir des algues.

Actuellement, plusieurs compagnies produisent des aliments pour bétail incluant des farines d'algues, le plus souvent brunes comme le *Fucus*, l'*Ascophyllum* et la *Laminaria*, ce qui permet un apport d'oligo-éléments entraînant une meilleure production laitière et une laine ovine de bonne qualité (Chopin et Whalen, 1993).

### **3. L'utilisation des algues dans la fabrication des produits de santé et de bien-être**

Durant ces dernières décennies, la filière de cosmétique s'appuie beaucoup plus sur les substances d'origines naturelles que sur les produits chimiques artificiels. L'avantage d'utilisation de ces produits comme cosmétiques est double. Ces produits n'ont pas d'effets secondaires et ne présentent pas de risque pour la santé humaine.

L'utilisation des extraits marins est en forte progression dans ce secteur. De nombreuses recherches tendent à valoriser l'utilisation des algues, notamment à la vue des enjeux économiques considérables liés aux produits cosmétologiques d'appellation biologique (Thomas et Kim, 2013).

Les métabolites dérivés d'algues ont été répertoriés comme actifs dans les soins anti-âges de la peau, amincissant, antioxydant, photoprotecteur et hydratant. Plusieurs espèces

d'algues appartenant à différents groupes sont utilisées en cosmétologie. Parmi elles : *Ulva lactuca*, *Corallina officinalis*, *Fucus vesiculosus* et *Laminaria digitata* (Bedoux et al., 2014).

En médecine traditionnelle on utilise les bains d'algue dans le traitement de rhumatisme ou certaines affections de l'appareil locomoteur. En chirurgie ou en gynécologie on utilise des stipes de laminaires pour débrider une plaie (Ainane, 2011). Les déchets industriels de l'algue rouge *Gelidium sesquipedale* ont été employés pour la fabrication d'un savon antifongique utilisé pour le traitement des infections superficielles cutanées à levures (Boujaber et al., 2014).

#### **4. L'utilisation des algues en tant que bioindicateurs**

Contrairement aux produits chimiques et aux carburants d'origine fossiles l'utilisation d'extraits d'algues comme bioproduits ou biocarburants ne génère pas de risque pour l'environnement.

Durant ces dernières décennies, les algues ont été utilisées dans le traitement des eaux usées. Il s'agit du lagunage, système extensif de traitement des eaux, apparenté à un processus naturel de biodégradation en milieu aqueux (Person, 2010). Les caractéristiques de l'écologie des macroalgues permettent de les utiliser en tant que bioindicateurs de la qualité du milieu environnant. En effet, les macroalgues, organismes sessiles dont la capacité de bioaccumulation de différents composants chimiques a été démontrée (Melville et Pulkownik, 2007), assimilent certains composants de la colonne d'eau comme les nutriments ou les métaux lourds.

La composition chimique des tissus des macroalgues peut ainsi potentiellement fournir des informations sur les sources de pollution et leurs niveaux. Certaines espèces de macroalgues, telles que *Cladophora glomerata* ou *Ulva rigida*, présentent de fortes capacités de bioaccumulation des métaux lourds (plomb, cadmium, nickel,...) et peuvent ainsi être utilisées en tant que biointégrateurs pour la teneur en métaux lourds du milieu aquatique (Boubonari et al., 2008) ou pour piéger les métaux lourds lors des étapes de traitement tertiaire des eaux usées (Chmielewska et Medved, 2001).

#### **5. L'utilisation des algues en agriculture**

En agriculture, les algues sont principalement utilisées comme engrais ou comme ingrédient dans la fabrication d'aliments pour le bétail, elles sont transformées en poudre, extraits liquides ou microbilles et sont épandues sur les terres. Elles permettent de retenir l'eau dans le sol, d'améliorer sa texture, de maintenir et d'enrichir le sol par des traces de métaux (Cu, Co, Zn, Mn, Fe, N), de fournir des éléments essentiels aux plantes, d'améliorer la

germination, d'augmenter le rendement et d'assurer une défense contre certains pathogènes des cultures. Les algues calcaires, ont été utilisées pour préparer des amendements agricoles qui fertilisent en y apportant des oligoéléments (Pérez, 1997).

Les algues marines et les extraits qui en sont issus sont commercialisés et utilisés en agriculture pour accroître les rendements et la qualité des produits récoltés depuis de nombreuses années. Ces organismes renferment des molécules suffisamment différentes de celles des plantes terrestres pour être reconnues comme éliciteurs de défense naturelle. Plusieurs travaux décrivent ces différents effets phytoactifs (Jolivet et *al.*, 1991 ; Verkleij, 1992).

## **Chapitre II : Utilisation des algues marines dans la stratégie de lutte contre les agents phytopathogènes : cas de la pourriture molle de la pomme de terre**

### **I. Généralités sur la pomme de terre**

La pomme de terre est originaire de la cordillère des Andes dans le sud-ouest de l'Amérique du Sud où son utilisation remonte à environ 8 000 ans. Les Incas l'ont cultivée sous le nom de papa et elle porte toujours ce nom en Amérique latine. Introduite en Europe vers la fin du XVI<sup>ème</sup> siècle à la suite de la découverte de l'Amérique par les conquistadors espagnols, elle est aujourd'hui cultivée dans plus de 150 pays sous pratiquement toutes les latitudes habitées (Rousselle et *al.*, 1996).

Jusqu'au début des années 90, la production et la consommation de pomme de terre étaient surtout attribuées à l'Europe (y compris les pays de l'ex-Union soviétique) et à l'Amérique du Nord. Depuis lors, le secteur de la pomme de terre a bien évolué car on a pu constater une forte émergence de la production et de la demande de pomme de terre venant d'Asie, d'Afrique et d'Amérique latine (Rakotonindraina, 2012). L'expansion coloniale des pays d'Europe et l'émigration contribuèrent à propager la culture de la pomme de terre dans le monde entier.

Les variétés de la pomme de terre sont extrêmement élevées, chaque variété possède une description officielle basée sur de nombreux caractères morphologiques et physiologiques lui permettant d'être toujours identifiable, différentiable visuellement des autres variétés (Peron, 2006). Toutefois, certains caractères descriptifs peuvent légèrement varier en fonction de l'époque et du lieu de culture.

Bien que les pommes de terre cultivées dans le monde appartiennent à la même espèce botanique, *Solanum tuberosum*, les variétés sont très différentes par leur taille, leur forme, leur couleur, leur usage culinaire et leur goût. Ces différents caractères sont adaptés à divers types d'utilisation : alimentation humaine ou transformation industrielle (Rakotonindraina, 2012).

### **II. Exigences de la plante**

#### **1. Exigences climatiques**

La pomme de terre est cultivée à une altitude de 1000 m. Son aire d'adaptation allant des régions subtropicales aux régions plus froides, elle résiste le mieux sous les climats tempérés, humides et brumeux (Laumonnier, 1979).

### **1.1. Température**

La culture de pomme de terre est fortement influencée par les températures basses, qui ralentissent directement la croissance et favorisant l'induction de la tubérisation. Elle est cultivée dans plus d'une centaine de pays au climat tempéré, subtropical ou tropical. Elle pousse surtout dans les régions au climat tempéré frais, la température étant le principal facteur limitant de la production : le développement du tubercule est fortement inhibé quand les températures sont inférieures à 10 °C et supérieures à 30 °C et l'on obtient un rendement optimal quand les températures diurnes moyennes sont comprises entre 18 °C et 20 °C (Rousselle et *al.*, 1996).

### **1.2. Lumière**

La lumière intervient par son effet photopériodique dans l'induction de la tubérisation et par son intensité dans l'activité photosynthétique. Les photopériodes courtes sont plus favorables à la tubérisation et les photopériodes longues plus favorables à la croissance. La plupart des cultivars utilisés dans les régions à climat tempéré ont des photopériodes critiques comprises entre 13 heures et 16 heures (Rousselle et *al.*, 1996).

### **1.3. Alimentation en eau**

Les besoins en eau de la culture de pomme de terre sont surtout importants au moment de l'initiation des tubercules, ils varient au cours du cycle végétatif. Un stress hydrique se manifestant à ce stade peut entraîner une réduction du nombre d'ébauches formées par plante, consécutive à une réduction du nombre de stolons formés par tige (Rousselle et *al.*, 1996). Ses besoins en eau, faibles en début de végétation, sont très importants au moment de la croissance foliaire et de la tubérisation. La plante évapore beaucoup et par conséquent elle a besoin de grandes quantités d'eau. Dans les meilleures conditions, elle utilise 300 g d'eau pour former 1 g de matière sèche, c'est jusqu'à 80 m<sup>3</sup> d'eau par hectare et par jour qui peuvent lui être nécessaire. L'irrigation peut être très efficace dans les différents stades de croissance de la culture de pomme de terre (Soltner, 1990).

## **2. Exigences édaphiques**

La pomme de terre préfère les sols siliceux ou silico-argileux, légers, assez frais et profonds. Elle s'accommode des terres acides dont le pH est assez bas de 5,5 à 6. Il n'y a que les terrains très argileux, froids et humides au printemps et en automne, secs et compacts en été, ou trop calcaires qui ne lui conviennent pas (Gauthier, 1991).

### **3. Exigences en éléments fertilisants**

La pomme de terre se classe parmi les plantes qui sont très exigeantes en azote, phosphore et potassium. L'azote est le facteur déterminant du rendement de la culture. Il favorise dans un premier temps le développement du feuillage, puis la formation et le grossissement des tubercules. L'acide phosphorique favorise le développement racinaire, alors que les besoins en calcium, magnésium et soufre sont généralement notables. Par contre la culture de pomme de terre est sensible à une carence en magnésie qui se manifeste par un jaunissement entre les nervures des feuilles (Rousselle et *al.*, 1996).

## **III. Quelques chiffres sur la production de pomme de terre**

### **1. A l'échelle internationale**

La pomme de terre est la 4<sup>ème</sup> culture mondiale après le blé, le riz et le maïs (330 millions de tonnes produites dans le monde). La Chine est le premier pays producteur mondial, elle produit autant que l'Union Européenne (environ 20 % de la production mondiale). Quatre pays dépassent 40 tonnes/ha, à savoir les Pays-Bas, les USA, la France et l'Allemagne, tandis que le rendement moyen en Chine, Inde et Russie reste inférieur à 20 tonnes/ha. La France est le seul pays à dépasser les 2 millions de tonne/an pour une superficie d'environ 165 000 ha, se positionnant comme premier exportateur mondial de pommes de terre (Kettani Halabi, 2012).

### **2. A l'échelle nationale**

Au Maroc, depuis son introduction au XIX<sup>ème</sup> siècle, la pomme de terre a connu un essor considérable que cela soit dans la superficie cultivée ou dans les habitudes alimentaires. Elle est cultivable durant presque toute l'année et pratiquement dans toutes les régions du Maroc (Chibane, 1999). La superficie occupée par les cultures maraîchères varie chaque année entre 180 et 200 000 hectares, dont environ 62 000 ha/an cultivés en pomme de terre, soit plus de 25 % de la superficie maraîchère totale. La production a également augmenté considérablement, passant de quelque 150 000 tonnes en 1961 à un volume record de 1,8 million de tonnes en 2014 (FAO, 2016). De ce fait, la pomme de terre est classée première culture maraîchère de saison de point de vue superficie et production (Rousselle et *al.*, 1996), deuxième en exportation après la tomate (culture de primeur) et troisième culture vivrière après la betterave à sucre et le blé. Sa production est concentrée le long de la côte atlantique, au nord et au sud de Casablanca, où le climat méditerranéen est propice à sa culture.

Sa consommation est de 42 kg/an par habitant. Les principales variétés utilisées au Maroc sont : Nicola (à chair blanche), Spunta (à chair blanche) et Désirée (à chair rouge) (Rousselle et *al.*, 1996). La production de pomme de terre ne cesse d'augmenter annuellement et revêt une importance capitale pour l'agriculture marocaine. Elle joue un rôle important dans l'économie marocaine (Kettani Halabi, 2012).

#### **IV. Facteurs influençant la production de la pomme de terre**

La culture de pomme de terre est influencée par de nombreux facteurs abiotiques ou biotiques conduisant à des pertes économiques importantes (Rensink et *al.*, 2005).

##### **1. Facteurs abiotiques**

Ce sont des facteurs non infectieux et non transmissibles d'une plante malade à une plante saine. Les principaux sont les sécheresses prolongées, les tempêtes de grêle, les fortes précipitations et/ou des pluies irrégulières réparties inégalement, l'apparition précoce ou au contraire tardive du gel et de la neige dans les cultures en altitude (Stäubli et *al.*, 2008). S'ajoutent à ces facteurs climatiques, la structure et la nature du sol, les concentrations en éléments minéraux (calcium, fer ...) et la pollution qui peut affecter l'air, l'eau et le sol.

##### **2. Facteurs biotiques**

###### **2.1. Ravageurs**

Les ravageurs regroupent l'ensemble des espèces animales qui causent des dégâts aux cultures au champ, au cours du transport ou bien lors du stockage, ils peuvent attaquer les parties aériennes ou souterraines de la plante de pomme de terre et peuvent être des vecteurs de plusieurs agents de maladies (virus, mycoplasmes, bactéries et champignons). Les plus importants ravageurs sont les insectes phytophages et les nématodes, par exemple *Globodera pallida*, nématode à kyste de la pomme de terre (Blok et *al.*, 2006).

###### **2.2. Maladies parasitaires**

Contrairement aux maladies abiotiques, les maladies parasitaires sont infectieuses et contagieuses, transmissibles d'une plante malade à une plante saine. Les agents pathogènes responsables de ces maladies peuvent être :

- Des champignons du genre Alternariose (*Alternaria solani*) et Fusariose (*Fusarium* spp.) ;

- Des oomycètes comme le mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans*) ;
- Des virus comme la Potato Virus Y ; PVY ; Potato Virus X et la mosaïque de la pomme de terre (PVX) ;
- Des bactéries comme la pourriture annulaire (*Clavibacter michiganensis*) ; la pourriture brune (*Ralstonia solanacearum*) et la pourriture molle (*Pectobacterium* sp.) (Kettani-halabi, 2012).

## **V. La pourriture molle de la pomme de terre : *Pectobacterium* sp.**

### **1. Définition**

Les genres *Pectobacterium* anciennement regroupés sous le genre *Erwinia*, appartiennent à la famille des Entérobactériacées et forment un groupe d'agents pathogènes qui attaquent le plus la culture de pomme de terre (*Solanum tuberosum*). Ce sont des bacilles Gram négatif, en bâtonnets droits de 0,5 à 1,0 µm de large et de 1,0 à 3,0 µm de long, anaérobies facultatifs, mobiles grâce à des flagelles péritriches, isolées par paires et parfois en chaînes courtes, oxydase négative et catalase positive (Dickey et al., 1984). Elles sont capables de réduire les nitrates, fermenter le glucose et produire de l'acide à partir de certains hydrates de carbone (méliobiose, D-arabitol ou tréhalose). Leur température optimale de croissance se situe entre 27 °C et 35 °C selon les espèces (Perombelon et Kelman, 1980).

Le genre *Pectobacterium* est un groupe de bactéries pectinolytiques isolé pour la première fois en 1901 par Jones sous le nom de *Bacillus carotovorus* d'une pourriture humide de carotte (Skerman et al., 1980). En 1920, Winslow classa ces bactéries pectinolytiques dans le genre *Erwinia*, en hommage du phytopathologiste Erwin F. Smith. Ce genre comprend deux groupes d'espèces morphologiquement similaires mais qui présentent de différences nettes de caractéristiques biochimiques et d'expression du pouvoir pathogène. Il renferme d'une part l'espèce *Erwinia amylovora* agent causal du feu bactérien et d'autre part les *Erwinia* pectinolytiques responsables de la pourriture molle des tubercules de pomme de terre (Perombelon et Kelman, 1980 ; Toth et Birch, 2005). En 1945, Waldee proposa la création du genre *Pectobacterium* pour classer les *Erwinia* pectinolytiques dans un groupe séparé des autres *Erwinia*. Cependant, cette nomenclature a longtemps été controversée par la communauté de recherche d'*Erwinia* (Gardan et al., 2003 ; Toth et al., 2003a). En 1969, Dye proposa de diviser le genre *Erwinia* en quatre groupes (*Amylovora*, *Herbicola*, *Carotovora* et *Erwinia* atypique) et en 1998, Hauben et al. ont réussi à dissocier sur la base de la comparaison des séquences d'ADN

16S et des structures secondaires des ARN correspondants les *Pectobacterium* en quatre genres : *Erwinia*, *Pectobacterium*, *Brenneria* et *Pantoea* (Hauben et al., 1998). L'analyse d'une collection de souches de *Pectobacterium* sp. associant des techniques moléculaires, phénotypiques et sérologiques ainsi que les analyses phylogénétiques ont conduit les auteurs à distinguer clairement trois genres différents : *Pectobacterium*, *Dickeya* et *Brenneria*.

Les bactéries pathogènes de la pomme de terre ont été donc subdivisées en deux genres différents. *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* et *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* s'appellent respectivement *Pectobacterium atrosepticum* (Pba) et *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Pcc) (Gardan et al., 2003) pendant que *Erwinia chrysanthemi* devient *Dickeya* spp. (Samson et al., 2005). Les espèces de *Dickeya* spp. associées à la pomme de terre sont *Dickeya dadantii* (anciennement appelée *Erwinia chrysanthemi* 3937), *Dickeya zeae* (anciennement appelée *Erwinia chrysanthemi* biovar 3), *Dickeya dianthicola* (anciennement appelée *Erwinia chrysanthemi* biovars 1 et 7) (Samson et al., 2005 ; Tsrör et al., 2009) et l'espèce provisoirement nommée "*Dickeya solani*" (Toth et al., 2011).

## **2. Distribution géographique**

Les bactéries du genre *Pectobacterium* sont conditionnées par la présence d'hôtes sensibles mais surtout par leurs exigences thermiques, *Pectobacterium atrosepticum* est répandue dans les régions tempérées froides et infecte uniquement la pomme de terre sous les climats tempérés (Pérombelon et Kelman, 1980 ; Pérombelon, 1992a ; Toth et al., 2003a ; Glasner et al., 2008). L'association préférentielle de *Pectobacterium atrosepticum* à la pomme de terre peut être expliquée en termes de concordance entre les exigences écologiques de la bactérie et celles de cette culture (Pérombelon, 1992b). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* est distribuée sur une aire géographique plus vaste et elle est la cause de la pourriture molle d'une diversité de fruits et légumes (pomme de terre, chou, poivre, carotte, tomate) (Hadas et al., 2001).

*Dickeya* spp. est répandue en zone tropicale et subtropicale sur de nombreuses cultures telles que la pomme de terre, la banane, le chrysanthème et l'ananas (Pérombelon, 2002). Cependant, certaines espèces de *Dickeya* se rencontrent de plus en plus en régions tempérées (Europe de l'Ouest et du Nord) notamment *Dickeya dianthicola* et *Dickeya solani* (Tsrör et al., 2009 ; Toth et al., 2011).

Les pertes économiques causées par les bactéries du genre *Pectobacterium* peuvent être chiffrées en millions d'euros en Europe de l'Ouest (Latour et al., 2008 ; Cirou et al., 2009), ce

qui cause un refus ou un déclassement des lots de semences de pomme de terre, ainsi qu'un refus à l'exportation (Pérombelon, 2000 ; Toth et *al.*, 2011).

### **3. Situation du *Pectobacterium* sp. au Maroc**

La pourriture molle des tubercules de pomme de terre a été signalée pour la première fois en Europe aux Pays-Bas en 1970 dans les lots de pomme de terre destinés à l'exportation (Kettani halabi, 2012). En 2001, le Maroc a connu une première apparition de cette maladie au niveau des racines des betteraves sucrières qui a causé une forte réduction du taux d'extraction du sucre (Snaiki et *al.*, 2005). Les prospections effectuées sur des cultures de la pomme de terre atteintes de maladies bactériennes dans les régions de Meknès, El Hajeb et Larache ont permis d'isoler 101 souches pathogènes de *Pectobacterium* sp. responsables des pourritures molles.

L'activité pectinolytique et les tests phénotypiques effectués sur 61 souches pathogènes ont permis l'identification de 33 souches du *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, 25 souches de *Pectobacterium atrosepticum* et 3 souches ayant le profil du *Dickeya* sp. (Rapport national INRA-Maroc, 2007).

### **4. Maladies de la pomme de terre liées aux *Pectobacterium* sp.**

Une augmentation des maladies due aux bactéries du genre *Pectobacterium* a été constatée au cours des dernières années. Ce groupe de bactéries est classé parmi les agents pathogènes les plus importants économiquement pour la culture de pommes de terre (Hélia, 2008). Lors d'infections précoces des pousses des plantes de pomme de terre par ces bactéries, des déficiences de peuplement apparaissent au champ. Avec une infection plus tardive, différents symptômes peuvent être distingués à savoir : la pourriture molle des tubercules et la jambe noire. Les symptômes peuvent se manifester différemment selon la variété, le temps, la période d'infection et l'agent pathogène (Pérombelon, 2002 ; Toth et *al.*, 2003a).

La pourriture molle représente la plus importante maladie bactérienne du genre *Pectobacterium* de la pomme de terre à l'échelle mondiale (De Boer, 1994). Les tubercules peuvent être infectés au champ avant la récolte ou lors du stockage (Corcuff et *al.*, 2011). Les sols et les semences infectés sont les principales sources de contamination et la propagation de l'infection au champ est facilitée par les eaux d'irrigation et de pluie. La dissémination en entrepôt est de son côté assurée par la présence des tubercules infectés et les insectes qui assurent la transmissibilité de la maladie (Yaganza, 2005).

On distingue trois espèces qui peuvent causer la maladie de la pourriture molle chez la culture de pomme de terre : *Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* et *Dickeya dadantii*.

#### **4.1. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum***

C'est une bactérie du genre *Pectobacterium* qui affecte une gamme d'hôtes très large (légumes, tournesols, tabac, pomme de terre, tomate...), dans les régions tropicales et tempérées, elle est souvent isolée à partir des pourritures humides des organes de réserve et des pourritures aériennes des tiges (Toth et *al.*, 2003b).

*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, agent pathogène de la pomme de terre est distribué dans une aire géographique étendue (Gardan et *al.*, 2003), aussi bien dans les zones tempérées que tropicales (Pérombelon et Kelman, 1987). Elle s'exprime préférentiellement à des températures plus élevées que *Pectobacterium atrosepticum*, allant de 20 à 30 °C (Smith et Bartz, 1990). *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* est souvent associé aux pourritures aériennes des tiges et des tubercules du fait de sa prédominance dans le sol et les aérosols. Elles peuvent aussi être transmises par l'eau de pluie et les insectes (Pérombelon et Kelman, 1987 ; De Boer, 1994).

Une nouvelle sous espèce au sein de *Pectobacterium carotovorum* : *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis*, associées à des symptômes de jambe noire au Brésil a été caractérisée comme étant responsable de la pourriture molle de la culture de pomme de terre (Duarte et *al.*, 2004).

#### **4.2. *Pectobacterium atrosepticum***

*Pectobacterium atrosepticum* est une bactérie limitée essentiellement aux pommes de terre, elle se développe préférentiellement entre 15 et 25 °C, entraînant des pourritures des tubercules et des tiges des plantes de pomme de terre (Pérombelon et Kelman, 1987). Cette association préférentielle de *Pectobacterium atrosepticum* à la pomme de terre est due à la concordance entre les exigences écologiques de la bactérie et celles de cette culture (Pérombelon, 1992b). Elle est généralement associée aux symptômes de la jambe noire dans les zones tempérées à climat frais et humide (Toth et *al.*, 2003b). Cette bactérie a également été isolée à partir de choux et navets cultivés à proximité de cultures de pomme de terre et affectées par la maladie (Pérombelon, 1992b).

### **4.3. *Dickeya dadantii***

Anciennement appelée *Erwinia chrysanthemi*, c'est une entérobactérie phytopathogène qui cause la pourriture molle dans un large éventail de cultures économiquement importantes, essentiellement la culture de pomme de terre.

Les *Erwinia chrysanthemi* sont désormais intégrées dans le nouveau genre *Dickeya*. Avec une température de croissance optimale élevée (35-37 °C) (Janse et Ruissen, 1988), *Dickeya* a été jusqu'à présent surtout identifiée sous les climats chauds. Parmi les six nouvelles espèces caractérisées dans ce nouveau genre, *Dickeya zea* et *Dickeya dianthicola* (Samson et al., 2005). Les symptômes varient selon les conditions climatiques (température, humidité) et l'augmentation de leur incidence est probablement liée aux températures estivales élevées (Laurila et al., 2007). Les bactéries du genre *Dickeya* peuvent être isolées à partir de maïs, tabac, ananas, chrysanthème, tomate, artichaut, endive et sur certaines plantes ornementales comme les dahlias, freesia, iris, kalanchoe ou œillet (Samson et al., 1987).

## **5. Conditions et facteurs de contamination des tubercules de pomme de terre**

La contamination des plantes et tubercules de pomme de terre se fait par différentes sources d'inoculum et sous l'effet de différents facteurs biotiques ou abiotiques.

### **5.1. Rôle du tubercule dans la transmission et la dissémination**

Les tubercules mères jouent un rôle important dans la transmission et la dissémination de la pourriture molle lors du contact des tubercules malades avec des tubercules sains (Elphinstone et Pérombelon, 1986a ; Toth et al., 2011). Les bactéries peuvent être localisées à l'état latent dans le système vasculaire, les lenticelles ou à la surface des tubercules (Pérombelon, 2000), elles sont capables de se maintenir pendant les six à sept mois de stockage (Pérombelon, 1973). Par ailleurs, les blessures occasionnées lors de la manipulation des tubercules constituent également une source de contamination (Pérombelon et Kelman, 1980). Les bactéries persistent mieux au niveau des blessures profondes où elles sont bien protégées après leur cicatrisation (Pérombelon, 1992a). Au cours de culture, la contamination de la descendance peut se produire à travers les tubercules mères pourris et lorsque les bactéries sont libérées dans le sol. Transportées par l'eau d'irrigation, les bactéries envahissent alors la rhizosphère des plantes et infectent les tubercules fils (Elphinstone et Pérombelon, 1986b).

La quantité d'eau retenue par le sol influence également les niveaux de contamination des plantes de pomme de terre par l'intermédiaire des stolons et des lenticelles, qui ont la capacité de s'ouvrir dans des sols mouillés, permettant ainsi l'entrée des bactéries et leurs transmissions à travers le système vasculaire, ce qui provoque la contamination des tubercules fils (Hélias *et al.*, 2000a). Le niveau de contamination du tubercule de semence est aussi un facteur important pour le développement de la maladie, les tubercules fortement contaminés par les bactéries favorisent positivement la transmission de la maladie (Bain *et al.*, 1990 ; Hélias *et al.*, 2000b).

## **5.2. Rôle du sol et de la rhizosphère**

Les *Pectobacterium* sont des organismes du «sol» dont le niveau de population augmente fortement en présence d'exsudats racinaires de plantes, la population bactérienne diminue jusqu'à un niveau non détectable en cas d'absence ou de quantités moindres de nutriments liées à la récolte ou à la maturité des plantes ou bien en présence d'antagonistes (Pérombelon et Hyman, 1989). Elles sont incapables d'adapter leur métabolisme et d'accumuler des réserves, elles ne peuvent concurrencer favorablement les autres micro-organismes du sol (Pérombelon, 1992a). La rhizosphère des cultures de Brassicacées (brocoli, colza, rutabaga, navet, chou) et d'autre (laitues, carottes, betteraves à sucre) sont reconnues comme étant l'hébergeant fréquent à des niveaux relativement élevés des *Pectobacterium* (Pérombelon et Hyman, 1989).

Les bactéries du genre *Pectobacterium* sont influencées par la température du sol plus que son humidité qui semble affecter la survie des bactéries, elles meurent rapidement dans un sol dépassant les 25 °C, alors qu'elles peuvent survivre plusieurs semaines, voire plusieurs mois à des températures de l'ordre de 10 à 20 °C (Pérombelon et Hyman, 1989), par contre, les *Dickeya* ne survivent pas plus de trois semaines dans un sol nu (Van der Wolf *et al.*, 2007). Elles peuvent également survivre au niveau des couches inférieures du sol (15-30 cm) où les conditions environnementales, fluctuations de température et d'humidité sont plus stables et favorables (De Mendonça et Stanghellini, 1979).

## **5.3. Transmission par l'eau et les aérosols**

Les eaux de surface constituent une source potentielle de contamination des cultures de pomme de terre *via* l'irrigation (Laurila *et al.*, 2007). Les aérosols générés par la pluie ou l'arrosage par aspersion sur des tiges infectées, ou lors du défanage avant la récolte peuvent

également disperser les bactéries du genre *Pectobacterium* sur plusieurs centaines de mètres (Graham et Harrison, 1975). La survie de ces organismes dans les aérosols semble de courte durée puisque seulement 50 % des bactéries survivent après cinq à dix minutes (Pérombelon, 1992a).

#### **5.4. Matériel et pratiques agricoles**

La plantation, la récolte et le tri mécanique des tubercules peuvent être la principale cause de la propagation des pathogènes entre les lots de pomme de terre et au sein des stocks lors du contact de tubercules sains avec des tubercules ou du matériel infecté. Le passage de machines agricoles contaminées lors de la culture et les pratiques de récolte mécaniques constituent également un autre mode de dissémination des bactéries (De Boer, 2002). Les matériels non désinfectés ainsi que les blessures occasionnées sur les grilles des trieuses lors de la manipulation et la plantation des tubercules ou après la récolte favorisent également les contaminations. Le lavage des tubercules avant leur commercialisation peut également disséminer la bactérie dans les lots de pomme de terre lorsque l'eau servant au lavage n'est pas renouvelée ou décontaminée (Pérombelon et Kelman, 1980 ; Elphinstone et Pérombelon, 1986a).

#### **5.5. Insectes**

Suite à leur passage d'une plante infectée à une plante saine, les insectes sont également une source de contamination par les bactéries du genre *Pectobacterium* (Bedin, 1988). Les bactéries pourraient également être disséminées par la microfaune du sol, les pupes et larves de certains insectes comme *Thymemyia cilicrura*, par des nématodes et des vers de terre.

#### **5.6. Au stockage**

La pourriture molle débute généralement sur des tubercules situés au fond du tas de pomme de terre en entrepôt, où la ventilation est déficiente et la condensation est fréquente.

L'initiation des pourritures molles de tubercules de pomme de terre au stockage est principalement liée aux conditions de l'anaérobiose, qui affaiblit la résistance de l'hôte, inhibe la lignification et la subérification des cellules et augmente la perméabilité membranaire (Pérombelon, 2002) à l'eau libre qui entraîne le maintien des conditions d'anaérobiose au niveau du tubercule (Burton et Wigginton, 1970) et favorise le déplacement des bactéries dans les tissus de l'hôte (Toth et *al.*, 2003a). Elle est liée aussi à la température supérieure au

minimum requis pour la croissance bactérienne, au potentiel hydrique des cellules du tubercule élevé (Pérombelon et Kelman, 1980 ; Pérombelon, 2002) et à un seuil minimum de bactéries ( $10^3$  bactéries par tubercule) (Bain et *al.*, 1990).

## **6. Mode d'action de la pourriture molle**

Les *Pectobacterium* produisent de grandes quantités d'enzymes pectinolytiques qui en synergie avec d'autres enzymes provoquent la dégradation des tissus des végétaux à des degrés d'agressivité variables (Whitehead et *al.*, 2001). La pourriture débute au bout du stolon ou au niveau des lenticelles. Les bactéries colonisent d'abord les vaisseaux du xylème de la plante et se multiplient par la suite dans les espaces intercellulaires de l'hôte en sécrétant une série de pectinases qui dégradent la paroi des cellules et déstabilisent le parenchyme provoquant ainsi la macération des tissus. Ces phénomènes interrompent le transport de l'eau et des éléments minéraux, vers le sommet de la plante, provoquant des symptômes de flétrissement et de jaunissement du feuillage (Hélias et *al.*, 2000a ; Charkowski, 2006). Les parties atteintes montrent alors une décoloration légèrement brune qui plus tard se creuse, s'accompagne d'une transformation de la chair en une pourriture molle typique de la maladie. Cette pourriture incolore qui en sort devient rapidement rougeâtre à brun foncé au contact de l'air. Elle dégage une odeur de moisi due à l'acide butyrique. Cet arsenal enzymatique est particulièrement bien adapté à la dégradation de tous les composants des parois cellulaires végétales, ce qui explique l'ampleur des dégâts observés et leur vitesse d'apparition.

## **7. Symptômes sur plante et sur tubercule**

L'apparition et la nature des symptômes causés par *Pectobacterium* spp. dépendent des conditions environnementales (température et humidité) et de la partie du végétal infectée.

### **7.1. Symptômes sur les parties aériennes**

Les bactéries du genre *Pectobacterium* attaquent la tige du plante de pomme de terre au cours de végétation provoquant ainsi la jambe noire (ou *Blackleg*). L'infection induit une pourriture molle de la tige qui prend une coloration brune foncée à noire à la base des tiges et du point d'attache des feuilles sur la tige (entrenœuds), flétrissement et jaunissement du feuillage, enroulement des feuilles ainsi que des nécroses plus ou moins sèches.

## 7.2. Symptômes sur les tubercules

Les tubercules de pomme de terre peuvent également être atteints de symptômes qui se développent en cours de culture ou lors de conservation sous la forme de pourritures molles humides et souvent de mauvaise odeur suite à la production de poches gazeuses. En conservation, la pourriture molle peut entraîner la contamination rapide des tubercules avoisinants causant ainsi des dégâts très importants (Pérombelon et Kelman, 1980 ; Pérombelon et Kelman, 1987 ; Pérombelon, 2002). Au champ, la pourriture attaque les tubercules-mères et provoque des pertes à la levée ou fonte de semis (Pérombelon et Salmond, 1995).

Les symptômes sont nettement délimités des parties saines et se caractérisent par des petites tâches diffuses d'aspect grassex qui commencent généralement par apparaître autour des lenticelles, des blessures ou du talon de couleur claire, brunit jusqu'au noir, puis s'étendent rapidement à l'intérieur du tubercule et dégrade les tissus provoquant une macération du parenchyme (Pérombelon et Kelman, 1980). Lorsque l'infection est stoppée, la zone malade se dessèche, laissant une zone creuse remplie d'une masse de matériel mort dur et noir (Fig. 6).



**Figure 6** : Aspect de quelques symptômes causés par *Pectobacterium* sp. (Christ et al., 1998).

**A** : Pourriture molle de l'extérieur de tubercule, **B** : Pourriture molle de l'intérieur de tubercule, **C** et **D** : Jambe noire à la base des tiges.

## 8. Stratégies de lutte contre les *Pectobacterium* sp.

Les pertes économiques causées par les maladies phytopathogènes et particulièrement les bactéries du genre *Pectobacterium* et l'absence de moyens de lutte efficaces motivent aujourd'hui le développement de recherches multidisciplinaires visant à protéger du mieux possible les cultures (Latour et al., 2008 ; Czajkowski et al., 2011). Les agriculteurs s'orientent vers d'autres moyens de lutte phytosanitaire basés essentiellement sur des mesures respectant l'environnement et la santé humaine en absence de moyens de lutte chimique efficace et agréée contre la pourriture molle (Rousselle et al., 1996 ; Latour et al., 2008). Ces mesures visent à

limiter ou réduire les niveaux de contamination des cultures au champ ou au stockage. De même, aucune variété commerciale totalement résistante (Czajkowski et *al.*, 2011) de pomme de terre, ni produits pesticide n'ont été signalées vis-à-vis de ces bactéries.

Les différentes stratégies de lutte qui existent à l'heure actuelle contre les *Pectobacterium* sp. sont des mesures pratiques, des moyens de lutte physique, chimique et biologique.

Au cours de la récolte, une humidité excessive des sols favorisant l'infection lenticellaires et une température supérieure à 20 °C sont à éviter (Rouselle et *al.*, 1996). L'entreposage des tubercules de pomme de terre dans un local ayant une température et une humidité relative adéquates et en absence d'un film d'eau sur les tubercules sont également des moyens de lutte efficace (Pérombelon et Salmond, 1995).

Différentes pratiques supplémentaires peuvent être mises en œuvre, qui peuvent limiter l'infection ou la propagation du pathogène sur les tubercules au champ ou après récolte et limiter leur dissémination dans l'environnement :

- La ventilation d'air extérieur pendant le transport,
- Les contrôles de température et d'humidité pendant le stockage,
- L'élimination des tubercules endommagés ou malades,
- La manipulation soigneuse des plantes pendant la récolte et le stockage qui permet de réduire les blessures favorisant l'infection (Czajkowski et *al.*, 2011).

La lutte chimique a pour but d'éviter la maladie (traitement préventif) ou de la stopper (traitement curatif). Les principaux moyens connus de lutte contre *Pectobacterium* sp. reposent sur l'utilisation des antibiotiques tel que : la kasugamycine, la neomycine, la streptomycine, la tétracycline et la vancomycine, des composés chimiques à base de cuivre (champ 2, phyton-27, cuivre analytique et cuivre fixé), des solutions salées de chlorure d'aluminium et de métabisulfite de sodium ou encore de peptides de synthèses qui sont avérés très efficaces et sont largement utilisés. Mais, l'utilisation au champ de ces produits chimique présente un danger pour la santé humaine, un risque écologique d'altération des équilibres microbiens et un développement important de résistances (Latour et *al.*, 2008 ; Muhammad et *al.*, 2009).

La lutte biologique est une autre alternative de lutte rentable et efficace, qui peut inhiber à plus de 80 % de la croissance bactérienne *in vitro* et *in vivo*. Cette technique repose essentiellement sur l'exploitation des relations dynamiques entre la plante et son environnement en utilisant des agents biologiques pour lutter contre les organismes pathogènes nuisibles.

Différentes approches de base de la lutte biologique ont ainsi été définies telles que : l'induction des systèmes de défense chez la plante.

### **9. Mécanismes d'induction de la résistance au *Pectobacterium* sp.**

La stimulation des réponses de défense chez la plante dépend du type d'interaction moléculaire qui s'établit entre la plante et l'agent pathogène. En effet, Au cours de leur évolution, les plantes ont mis en place des réponses de défense efficaces, leur permettant une meilleure adaptation à leur environnement (Zhang et Zhou, 2010). Elles disposent d'un éventail de défense, allant de barrières morphologiques constitutives à la mise en place de mécanismes cellulaires spécifiques (Tsuda et Katagiri, 2010). La perception de certaines molécules par les cellules végétales peut mener au déclenchement direct des réactions de défense ou mettre la plante en état de veille pendant laquelle elle pourra mobiliser plus rapidement et efficacement ses défenses contre un grand nombre d'agresseurs et pour une période relativement longue (Newman et *al.*, 2002). Ce phénomène dit "potentialisation" permet à la cellule de fournir moins d'énergie par rapport à celle nécessaire à l'induction directe des réactions de défense (Conrath et *al.*, 2006).

D'une manière générale, lors d'une interaction plante-microorganisme, différents types de résistances systémiques peuvent être mis en place chez la plante à savoir :

#### **9.1. Résistance systémique acquise (SAR, systemic acquired resistance)**

La RSA est une forme de résistance mise en place suite à l'activation des voies de défenses génétiquement programmées chez la plante (Sticher et *al.*, 1997). Ce type de résistance peut durer plusieurs semaines et permet la protection de la plante contre une attaque ultérieure par un large spectre de pathogènes, les plantes sont capables donc de mémoriser l'impact d'une première infection afin de se protéger face à une seconde infection (Hammerschmidt, 2009). Généralement, ce type de résistance est accompagné par l'accumulation d'acide salicylique (SA), de protéines liées à la pathogénicité (PR : Pathogenesis-Related Proteins), une réponse hypersensible locale (HR), la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et parfois à la synthèse de phytoalexines (Sticher et *al.*, 1997 ; Desender et *al.*, 2007).

#### **9.2. Résistance systémique induite (ISR, induced systemic resistance)**

La ISR est aussi une forme de résistance systémique qui offre une protection de la plante lors d'attaques ultérieures par des agents pathogènes (Pieterse et *al.*, 1996). Elle est stimulée

par certaines molécules dite éliciteurs qui sont capables de réduire la maladie à travers la stimulation de mécanismes de défense inductibles chez la plante (Pieterse et *al.*, 2003).

L'induction des mécanismes de défense par des éliciteurs, permettrait donc à la plante de se défendre plus rapidement et plus efficacement vis-à-vis d'une attaque par un agent pathogène. Cette résistance phénotypiquement similaire à la SAR mais qui suit une voie de signalisation différente (Van der Ent et *al.*, 2009). De plus, les mécanismes de résistance induite dans l'ISR atteignent leur efficacité maximale entre 4 à 5 jours après l'application d'un agent induisant la défense, mais elle ne confère pas une protection totale contre l'infection puisque le niveau de persistance de la résistance diminue avec le temps (Zamioudis et Pieterse, 2012). La durabilité de la résistance induite diffère d'une plante à l'autre, mais aussi en fonction de la souche bactérienne et des éliciteurs utilisés (Ramamoorthy et *al.*, 2001). Parmi les substances naturelles (éliciteurs) utilisées figurant les extraits d'algues connus pour leurs propriétés antibactériennes.

## **VI. Action des extraits d'algues sur les plantes cultivées**

Initialement employées entières, sous forme d'amendement organique, les algues sont actuellement de plus en plus utilisées sous forme d'extraits liquides. Divers effets phytoactifs et bénéfiques des extraits d'algues marines ont pu être mis en évidence, tel l'amélioration du taux de germination, l'augmentation des rendements, l'augmentation de la résistance au froid et à certaines maladies, l'intensification de l'absorption des éléments minéraux du sol ou encore la durée de conservation des fruits (Jolivet et *al.*, 1991).

Bien que le mode d'action des extraits d'algues ne soit pas entièrement élucidé. Quels que soient leur origine, ou leur mode de préparation, ces extraits sont très complexes et renferment de nombreux éléments minéraux et constituants organiques (Bruneton, 1993 ; Xing et Rajashekar, 2001). Les effets observés suite à l'application de ces produits proviendraient essentiellement des phytohormones et des polysaccharides. Les phytohormones présentes en faibles quantités (principalement cytokinines) agiraient au niveau du développement des organes, tandis que les polysaccharides seraient impliqués dans la stimulation des réactions de défenses naturelles des plantes. La présence de mannitol et d'acide alginique contribuerait également à l'absorption et à la translocation des éléments minéraux grâce à leur propriété chélatante. Quant aux éléments minéraux présents dans les extraits d'algues, ils ne

contribueraient que pour une portion insignifiante aux besoins de la plante traitée, vu la faible quantité de produit appliquée (Jolivet et *al.*, 1991).

Le déclenchement des modifications métaboliques au sein de la plante est expliqué, dans les conditions d'emploi préconisées, par la présence, au sein des extraits d'algues, de molécules signal reconnues par les plantes. Ces molécules signal, non toxiques par elles-mêmes, provoquent, sous conditions, une ou plusieurs réactions biochimiques qui modifient le métabolisme, les constituants et le comportement des plantes.

Dans le cas de stress biotiques, les éliciteurs présents dans les extraits d'algues permettraient d'activer, séparément ou non, au moins trois types de chaînons métaboliques impliqués dans :

- La biosynthèse de petites molécules non peptidiques à activité antibiotique, telles que les composés phénoliques qui vont imprégner les pectines,
- La biosynthèse de peptides, protéines ou enzymes anti-microbiens,
- La création de barrières cellulaires accroissant la résistance mécanique à la pénétration des agents pathogènes. On observe par exemple la formation de gel de pectate de calcium dans les espaces intercellulaires face à des attaques du tabac par *Phytophthora* (Fardeau et Jonis, 2004).

### **1. Amélioration de la germination des graines**

Dans la littérature, de nombreux exemples d'amélioration de la germination des graines par les extraits d'algues ont été décrits (Sivasankari et *al.*, 2006). Ces derniers relèvent un pourcentage de germination compris entre 98 % et 100 % chez les graines semées sur un extrait d'algues vertes ou brunes par rapport à un semis sur de l'eau (86 % de taux de germination). Le plus fort taux de germination est observé pour des extraits concentrés à 20 %. La germination est également favorisée lorsque les graines sont d'abord semées sur de l'eau pendant 24 heures, puis traitées avec les extraits d'algues, comparativement à un témoin traité par l'eau.

### **2. Amélioration de la croissance des plantes et du rendement**

De nombreux avantages de l'utilisation d'extraits d'algues ont été signalés et ont permis d'augmenter le rendement des cultures, l'amélioration des structures racinaires, le développement des plantes (développement de la floraison et des feuilles) et l'établissement des fruits. Ils sont également en mesure d'améliorer la tolérance aux contraintes biotiques et

abiotiques (Arioli et *al.*, 2015). Auparavant, les cytokinines, les auxines et les polyamines étaient identifiées dans les extraits d'algues. Récemment, d'autres groupes de régulateurs de croissance des plantes tel que l'acide abscissique, de gibbérellines et de brassinosteroides ont été quantifiés et qui peuvent être responsables de l'amélioration de la croissance des plantes (Stirk et *al.*, 2014).

Des études ont montré que l'application des extraits d'algues par pulvérisation foliaire sur les plantes de haricot, de tomate, de soja, de pois et de concombre entraîne une augmentation du rendement en grains et une augmentation des caractéristiques de croissance (Nawar et Ibraheim, 2014).

### **3. Amélioration de la résistance accrue des plantes aux stress et maladies**

L'apport d'extraits d'algues donne aux plantes une plus forte résistance au froid et à la sécheresse (Mooney et Van Staden, 1985). Leur pulvérisation confèrent aux plantes une résistance accrue contre les maladies fongiques, contre les attaques des insectes et contre l'infestation des racines par les nématodes (Wu et *al.*, 1997). Ainsi l'expression de nombreux gènes de défense est induite suite à la pulvérisation de ces extraits d'algues et qui se traduit par une protection accrue des plantes contre les attaques pathogènes (Cluzet et *al.*, 2004).

- **La laminarine**

Les laminarines des algues brunes et ses oligomères sont des inducteurs puissants des défenses végétales des dicotylédones (tomates et haricots verts) et des plantes monocotylédones (blé et riz), ce qui constitue un outil alternatif approprié pour lutter contre les maladies dans les cultures agricoles (Aziz et *al.*, 2003). En ce sens, son application a été recommandée pour la gestion intégrée associée à d'autres méthodes de lutte contre les maladies des plantes (Goëmar, 2012), considérant que le niveau de contrôle atteint est généralement intermédiaire. Sans l'induction de la mort cellulaire, le traitement des plantes de vigne avec le laminarine a réduit l'infection par *Botrytis cinerea* et *Plasmopara viticola* à 55 et 75 % respectivement (Aziz et *al.*, 2003 ; Klarzynski et *al.*, 2003).

Les laminarines dérivées de l'algue brune *Laminaria digitata* sont capables aussi de stimuler les réactions de défense contre *Botrytis cinerea* et *Plasmopara viticola* chez la culture de tabac (Klarzynski et *al.*, 2000) et de riz (Inui et *al.*, 1997). Les réponses de défense typiques incluent l'activation de la protéine kinase, l'influx de  $Ca^{2+}$ , l'explosion oxydante et l'alcalinisation des milieux extracellulaires, l'augmentation des activités de chitinase et de  $\beta$ -

1,3-glucanase, la production de phytoalexines et la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Menard et al., 2004), de même que des réponses plus tardives, dont les voies de signalisation hormonales. Lorsqu'ils sont pulvérisés sur des plantes de tabac et de vigne, les laminaranes induisent l'accumulation de phytoalexines et l'expression de protéines PR (pathogenesis-related) sans déclencher une réponse hypersensible (Klarzynski et al., 2000 ; Aziz et al., 2003), ce qui permet l'accumulation de ces protéines et l'augmentation des activités enzymatiques correspondantes, notamment chitinase et glucanase essentielles pour dégrader les parois de parasites (Jaulneau et al., 2010).

Les oligosaccharides obtenus à partir de laminarine imitent aussi une attaque contre le pathogène. Ils sont naturellement impliqués dans les mécanismes de reconnaissance cellulaire et dans les interactions plantes-pathogènes (Klarzynski et al., 2000).

Des produits à base de laminarine tels que : Iodus et Vaccipant, ont été commercialisés dans différents pays pour lutter contre le mildiou chez la fraise et les céréales, le feu bactérien chez le pommier et la pourriture grise chez la vigne (Benhamou et Rey, 2012). Le produit n'a pas de risque de phytotoxicité et les coûts énergétiques de plantes issues de la résistance induite sont apparemment faibles ou inexistantes.

- **Les fucanes**

Ce polysaccharide structurel se trouve dans les parois cellulaires des algues brunes telles que *Ascophyllum nodosum*, *Fucus* spp. et *Ecklonia* spp. (Stadnik et Paulert, 2008). Les espèces *Ascophyllum nodosum* et *Ecklonia* spp. sont utilisées comme matière première pour produire des engrais commerciaux et des bio-stimulants (Khan et al., 2009).

Le traitement des plantes de poivre et de la vigne avec l'extrait de *Ascophyllum nodosum* agit comme inducteur de résistance contre *Phytophthora capsici* et *Plasmopara viticola*, une augmentation de l'activité de la peroxydase et la synthèse de la phytoalexine capsidiol a été observée dans les tissus foliaires des plantes (Marciel et Mateus, 2014). L'extrait du *Sargassum* permet aussi une protection du coton contre les attaques bactériennes (Craigie, 2010). Eloutassi et Louaste (2012), ont montré que l'algue *Cystoseira tamariscifolia* inhibe la croissance du champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (F.O.L) responsable de la fusariose et de la formation des mycotoxines par ce champignon.

Les oligosaccharides préparés à partir de l'hydrolyse enzymatique du fucane sulfaté obtenu à partir de l'algue brune *Pelvetia canaliculata* (L.) ont induit chez la culture de tabac, à la fois des effets précoces tels que l'alcalinisation des milieux extracellulaires et la production de peroxyde d'hydrogène et des réponses de défense tardives telle qu'une augmentation des

activités PAL (phénylalanine ammoniacase) et lipoxygénase. Bien que les fucanes soient des ingrédients de la plupart des biostimulants et des engrais à base d'algues, les études sur leur activité d'élicitation sont encore rares en comparaison avec d'autres polysaccharides (Klarzynski et *al.*, 2003 ; Marciel et Mateus, 2014).

- **Les carraghénanes**

Les carraghénanes des algues rouges et leurs oligosaccharides peuvent activer des mécanismes de défense contre les pathogènes des plantes, y compris les bactéries, les champignons et les virus. Patier et *al.* (1995) ont constaté que le  $\kappa$ -carraghénane induit l'activité de la  $\beta$ -1,3-glucanase chez des cultures de *Rubus fruticosus* L. et que les oligo-carraghénanes étaient plus efficaces que le polysaccharide original. Chez les plantes de tabac l'application de carraghénane déclenchait différents systèmes de défense impliquant l'éthylène, l'acide jasmonique et les voies de l'acide salicylique (Mercier et *al.*, 2001). D'autre part, Sangha et *al.* (2010) ont démontré que l'induction de la résistance par  $\lambda$ -carraghénane chez *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynhold contre *Sclerotinia sclerotiorum* était due à une augmentation de l'activité de l'oxalate oxydase et à l'expression des gènes associés à la signalisation de l'acide jasmonique, par exemple AOS, PDF1.2 et PR3.

Vera et *al.* (2012) ont démontré l'effet systémique des  $\kappa$ ,  $\iota$  et  $\lambda$ -oligo-carraghénanes contre le virus de la mosaïque du tabac (TMV), *Botrytis cinerea* et *Pectobacterium carotovorum*. Dans cette étude, des concentrations plus élevées et des applications fréquentes d'oligo-carraghénanes (1-5 mg/mL), principalement  $\lambda$ -oligo-carraghénane ont permis une protection durable des plantes contre le TMV. De plus, le traitement avec des oligo-carraghénanes a augmenté l'activité de la phénylalanine ammoniacase et l'accumulation de composés phénoliques, ce qui suggère que ces composés sont impliqués dans la protection.

L'efficacité de l'activité d'élicitation dépend du type de carraghénanes, de son degré de sulfatation et du mode de vie du pathogène. Le prétraitement de *Arabidopsis thaliana* avec un  $\lambda$ -carraghénane hautement sulfaté a induit une résistance à *Sclerotinia sclerotiorum*, ce qui a entraîné moins de dommages foliaires, tandis que le  $\kappa$ -carraghénane, avec un degré de sulfatation plus faible, a augmenté la sévérité de la maladie (Sangha et *al.*, 2010). Bien que différents types d'oligocarraghénanes protègent les plantes de tabac de manière similaire contre *Pectobacterium carotovorum*, les  $\lambda$ - et  $\kappa$ -oligo-carraghénanes sont plus efficaces contre *Botrytis cinerea* (Vera et *al.*, 2012).

Ces réactions impliquaient la production locale d'inhibiteurs de la chitinase et de la protéinase (Mercier et *al.*, 2001). Outre la capacité à induire une résistance systémique, des effets bénéfiques (bio-stimulants) sur la physiologie végétale ont été observés par l'application de carraghénanes. Castro et *al.* (2012) ont conclu que la pulvérisation des oligocarraghénanes à la concentration de 1 mg/mL stimulait la croissance, la photosynthèse et le métabolisme basal des plantes de tabac.

- **Les ulvanes**

Les algues vertes renferment dans leur paroi des sucres solubles appelés ulvanes qui représentent 8 à 29 % de la matière sèche (Doyen et Britten, 2011). Ces ulvanes sont capables d'activer les défenses des plantes et de les protéger contre certaines maladies (Cluzet et *al.*, 2004).

*Ulva fasciata* a été identifiée comme une source potentielle pour fournir des composés actifs essentiellement de l'ulvan qui permet de réduire et de contrôler la gravité d'une large gamme de maladies sur les haricots tels que la rouille causée par *Triticum aestivum* (Delgado et *al.*, 2013), l'oïdium (Jaulneau et *al.*, 2011) et l'antracnose (Loffaguen et *al.*, 2004 ; Freitas et Stadnik, 2012), entraînant ainsi une forte réduction (près de 80 %) du nombre de colonies de mildiou sur les feuilles prétraitées (Jaulneau et *al.*, 2011) et une réduction de 50 % de la sévérité de l'antracnose sur le cultivar des haricots hautement sensibles (Loffaguen et *al.*, 2004). Cet effet protecteur était similaire au traitement avec le fongicide à la strobilurine.

En outre, les polysaccharides des algues vertes ont montré des résultats importants contre d'autres maladies telles que la tache de *Glomerella* (*Glomerella cingulata*) sur la pomme (Araújo et Stadnik, 2013) et le mildiou sur le blé et l'orge (Jaulneau et *al.*, 2011). Les oligosaccharides isolés à partir de l'algue verte *Ulva lactuca* ont eux aussi, un effet stimulateur de capacité des défenses naturelles des plantes de tomates (El Modafar et *al.*, 2012).

#### **4. Amélioration de la qualité des produits récoltés**

Des pulvérisations foliaires répétées de substances marines sur des espèces fruitières ou maraîchères avant la récolte se traduisent par un affermissement des fruits ou des légumes, qui se conservent alors d'autant mieux (Povolny, 1976). La pureté du jus et une augmentation de la production de sucre chez la betterave à sucre est notamment améliorée en réponse à un traitement algal (Yvin et *al.*, 1989).

**Partie II : Etude de la  
composition lipidique de 24 espèces  
d'algues marines et l'évaluation de  
l'activité antiproliférative  
de *Bifurcaria bifurcata***

Les algues sont une source d'intérêt économique pour leur proportion variable en lipides, car la qualité de ces derniers intéresse les industries et en particulier celle de l'agroalimentaire et de la pharmacologie. Connaître la composition lipidique des algues permettra leur valorisation en nutrition.

Dans le domaine médical, il a été rapporté que les algues possèdent des composés présentant un potentiel antimicrobien, antiviral et vermifuge (El-Wahidi *et al.*, 2013). L'activité antimicrobienne chez les algues a été largement étudiée et de nombreuses substances ont été identifiées comme des agents antimicrobiens, notamment des dérivés de la chlorelle, de l'acide acrylique, des composés aliphatiques halogénés, des terpènes, des composés hétérocycliques contenant du soufre, des inhibiteurs phénoliques, des alcaloïdes, etc (Etahiri *et al.*, 2001, 2007). Ce sont pour la plupart des composés lipophiles.

Dans ce cadre, de nombreux lipides marins bioactifs ont été répertoriés, en particulier les glycolipides présents chez les algues, à savoir les monogalactosyldiacylglycérols (MGDG) et les digalactosyldiglycérols (DGDG), qui ont montré un effet antitumoral. Les sulfoglycolipides de la classe des sulfoquinovosyl diacylglycérols et monoacylglycérols (SQDG et SQMG) sont des inhibiteurs potentiels des ADN polymérase  $\alpha$  et  $\beta$  (Hanashima *et al.*, 2000 ; Sahara *et al.*, 2002) et des agents antitumoraux (Sahara *et al.*, 2002).

Dans le but de rechercher de nouveaux composés de nature lipidique potentiellement anticancéreux, une étude a été réalisée afin de sélectionner les algues les plus riches en lipide parmi les 24 espèces récoltées. Pour cela, deux approches ont été possibles : méthodes A et B. La méthode A, plus rapide nous permet d'avoir la composition en acides gras des lipides totaux ainsi que celle de l'insaponifiable. La méthode B, nous permet la séparation des lipides en classe, elle sera réalisée par chromatographie flash qui permet de réaliser des séparations et des purifications de façon automatisée.

Sur l'espèce sélectionnée (*Bifurcaria bifurcata*), une étude approfondie a été réalisée pour rechercher des composés bioactifs. Les différentes fractions lipidiques obtenues ont été évaluées pour leur activité antiproliférative *in vitro* contre deux lignées cellulaires cancéreuses humaines (NSCLC-N6 et A549), modèle ayant déjà donné des résultats antiprolifératifs avec un DGDG isolé d'une algue rouge *Grateloupia turuturu* (Kendel, 2012). Plus récemment sur la lignée NSCLC-N6 les MGDG de *Soliera chordalis* ont montré une  $CI_{50} = 23,5 \pm 1,3 \mu\text{g/mL}$ , et les DGDG de *Ulva armoricana* une  $CI_{50} = 24,0 \pm 0,3 \mu\text{g/mL}$  (Kendel *et al.*, 2015).

## I. Matériel et Méthodes

### 1. Récolte du matériel algal

Les algues ont été récoltées pendant la période de Mars-Avril en 2013 sur la côte d'El Jadida, à Sidi Bouzid (33°-33°16' 09''N, 8°30'-8°45'W) (Fig. 7). Le choix de cette période repose sur de nombreux travaux antérieurs qui ont montré que les algues récoltées pendant la période de Mars-Avril présentent une activité plus importante que celles récoltées durant le reste de l'année (Etahiri *et al.*, 2003 ; Elkouri, 2004 ; Farid *et al.*, 2012).

Les prélèvements ont été effectués à la main par arrachage et à marée basse. Après récolte, 1 kg d'algues pour chaque manipulation est d'abord lavé plusieurs fois à l'eau de mer, puis avec de l'eau de robinet, ensuite elles sont rincées à l'eau distillée afin d'éliminer toute molécule pouvant influencer l'évaluation des activités biologiques. Par la suite elles sont séchées à l'air libre à température ambiante à l'obscurité pendant 3 à 4 semaines jusqu'à déshydratation complète, puis elles sont broyées pour obtenir une poudre fine qui servira pour la suite de l'étude. La poudre est ensuite conservée à l'abri de la lumière dans un endroit sec jusqu'à utilisation.

Les algues récoltées ont été identifiées comme :

- **Algues vertes** : *Codium elongatum*, *Ulva rigida*, *Enteromorpha intestinalis*
- **Algues brunes** : *Bifurcaria bifurcata*, *Fucus spiralis*, *Laminaria digitata*, *Sargassum vulgare*, *Cystoseira tamariscifolia*, *Cystoseira humilis*, *Halopitys incurvus*,
- **Algues rouges** : *Ellisolandia elongata*, *Osmundea pinnatifida*, *Gracilaria cervicornis*, *Gymnogongrus crenulatus*, *Gelidium corneum*, *Gelidium pulchellum*, *Plocamium cartilagineum*, *Gigartina acicularis*, *Hypnea musciformis*, *Corallina officinalis*, *Asparagopsis armata*, *Rhodomenia pseudopalmata*, *Gigartina teedii*, *Gracilaria multipartita*.



**Figure 7** : Localisation du site de collecte des algues (Sidi Bouzid-El Jadida, Maroc)

## 2. Extraction des lipides totaux

50 g de la poudre de chaque espèce ont été macérés dans un mélange 20 fois supérieur de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  (50:50 v/v) pendant 48 heures. La phase liquide est décantée et laissée de nouveau à macérer pendant 24 heures à température ambiante, puis filtrée pour séparer la phase liquide et les résidus (Barnathan et *al.*, 1993). Le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  permet de récupérer la quasi-totalité des lipides (Bligh et Dyer, 1959 ; Schmid, 1973 ; Schmid et *al.*, 1973a,b). Ce mélange est utilisé pour accéder aux constituants des membranes cellulaires et pour rompre diverses liaisons, la présence de méthanol dans ce mélange a un rôle protecteur des enzymes pendant l'extraction (Kates, 1986).

La phase liquide est concentrée à sec et reprise par du dichlorométhane. La phase organique est lavée plusieurs fois à l'eau (40 % du volume final en solvant) pour éliminer les sels minéraux, déshydratée par le sulfate de sodium anhydre, filtrée sur un papier-filtre puis évaporée à 40 °C sous azote et pesée pour obtenir l'extrait brut lipidique (EBL). Le pourcentage de lipide est calculé selon la formule :

$$\% \text{ Lipide} = \left[ \frac{\text{Lipides totaux}}{\text{Lipides totaux} + \text{masse sèche délipidifiée}} \right] \times 100$$

## 3. Obtention des stérols et des acides gras totaux par saponification

La composition en acides gras à l'état d'esters méthyliques (EMAG) et de *N-acyl* pyrrolidides (NAP) a été menée sur les lipides totaux des différentes algues (après une

saponification). Quant à l'analyse des stérols, sa composition a été étudiée sur les lipides sous forme libre et acétate (Annexe 6).

### **3.1. Saponification**

La saponification est réalisée sur 30 mg d'extrait brut, qui ont été mis dans 1,5 mL de solution de KOH éthanoïque (2M) à 80 °C pendant 1 heure et 30 min à reflux. Après refroidissement, 500 µL d'eau distillée et 2,5 mL d'hexane ont été ajoutés. Puis sont agités et centrifugés à 3000 tours.min<sup>-1</sup> durant 5 min, deux phases ont été obtenues :

\*La phase organique A (phase inférieure ou insaponifiable) contenant les stérols,

\*La phase aqueuse B (phase supérieure) contenant les sels de potassium des acides gras (Fig. 8).

### **3.2. Acétylation de l'insaponifiable : Obtention des stérols acétylés**

Cette conversion en acétates rend les stérols plus volatils que les stérols libres. Sur la phase organique A (phase inférieure ou insaponifiable), le sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) est ajouté avec agitation et centrifugation. Le surnageant est prélevé dans deux autres tubes, 500 µL dans un pilulier pour l'analyse CPG/SM des stérols libres et le volume restant a été concentré à sec à 45 °C sous azote (Fig. 8).

L'acétylation a été réalisée par l'ajout à l'extrait sec d'anhydride acétique (500 µL) additionné de 2 gouttes de pyridine. Le mélange a été ensuite mis à réagir pendant une nuit dans l'obscurité et à température ambiante, de l'eau distillée (500 µL) a été ajoutée au milieu réactionnel et les stérols acétylés ont été ensuite extraits par 3 mL de dichlorométhane, puis centrifugés et la phase aqueuse a été éliminée. 1 mL de la solution saturée d'hydrogencarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>) a été ajouté à la phase organique, puis agité et centrifugé (3000 tours.min<sup>-1</sup>, 5 min) et la phase aqueuse a été enlevée. Pour terminer, le sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a été ajouté à la phase organique, après agitation et centrifugation, le surnageant a été prélevé dans un pilulier, concentré au demi à 45 °C sous azote, en vue de l'analyse de CPG/SM des acétates de stérols.

### **3.3. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG)**

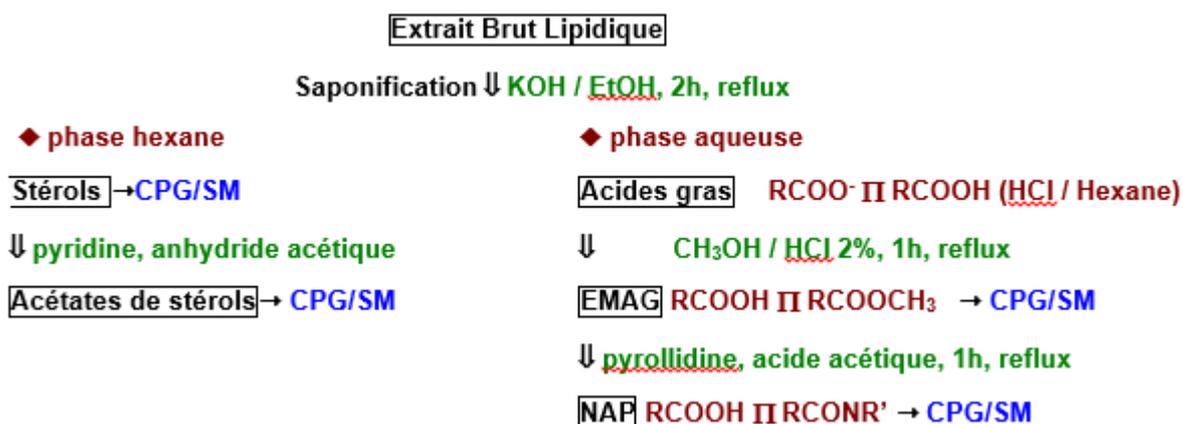
Sur la phase aqueuse B (phase supérieure), l'acidification a été effectuée par environ 500 µL d'une solution de HCl (2M) pour obtenir un pH entre 4 et 5. Puis une extraction avec 4 mL de dichlorométhane et suivi de centrifugation. La phase organique est prélevée et du

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre a été ajouté, puis agitée et centrifugée. La phase organique a été prélevée dans un autre tube, évaporée à sec et pesée.

Ensuite, les EMAG ont été préparés par ajout de 1 mL de méthanol chlorhydrique à 3 % et par chauffage sur plaque chauffante à 80 °C, pendant 1 heure. Après refroidissement, les EMAG ont été obtenus par ajout de 500 µL d'eau distillée et extraction par 4 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, suivie de centrifugation. Le surnageant a été prélevé dans un autre tube et concentré à sec dont 1 mL gardé en pilulier en vue de l'analyse CPG/SM des EMAG (Fig. 8).

### 3.4. Préparation des *N-acyl* pyrrolidides (NAP)

Une partie de la masse des EMAGs est transférée vers un tube en verre et évaporée à sec afin de quantifier la masse de l'échantillon, ensuite 300 µL de pyrrolidine et 50 µL d'acide acétique ont été rajoutés. Le tube fermé a été chauffé à 85 °C pendant 1 heure. Après refroidissement à température ambiante, 500 µL d'eau distillée et 4 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ont été ajoutés puis centrifugés (3000 tours.min<sup>-1</sup>, 5 min). La phase organique a été ensuite transférée dans un autre tube et du Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre a été ajouté, avant centrifugation. Enfin, le surnageant a été prélevé puis concentré à 1 mL pour la CPG/SM des pyrrolidides (Fig. 8).



**Figure 8** : Protocole de saponification des extraits lipidique

## 4. Recherche de l'activité antiproliférative

Les tests antiprolifératifs sont effectués sur des cellules humaines cancéreuses pulmonaires de deux lignées différentes. La première lignée, A549, est issue d'un adénocarcinome (tumeur maligne) d'épithélium pulmonaire. La deuxième lignée, NSCLC-N6, est issue d'une biopsie prélevée avant tout traitement sur un patient atteint d'un cancer broncho-

pulmonaire. Cette activité a été évaluée au Laboratoire de Biologie cellulaire et Génétique Moléculaire à la Faculté de Pharmacie et Pharmacologie Marine à Nantes-France.

#### **4.1. Principe**

Le principe du test est de mettre en contact des cellules cancéreuses avec le produit à tester à différentes concentrations et d'observer la dynamique de prolifération des cellules en la comparant à celle de cellules mises dans les mêmes conditions sans le produit à tester.

#### **4.2. Protocole**

Ce test est réalisé dans des plaques 96 puits selon le protocole suivant :

Le milieu de culture (RPMI 1640 Gibco®) utilisé est composé d'acides aminés et de vitamines. A ce milieu est ajouté de la glutamine et des antibiotiques. Deux plaques J-72 et J-0 sont préparées. La plaque J-72 contient les différents échantillons à différentes concentrations. La plaque J-0 contient seulement le milieu de culture et la suspension cellulaire et sert à quantifier le nombre de cellules au moment de la création de la plaque J-72. Cela permettra de quantifier la prolifération ou la non-prolifération au bout de 72 heures d'incubation. Dans la plaque J-72, sont incorporés deux témoins : le témoin optique qui va permettre de vérifier la non contamination du milieu de culture et le témoin de croissance qui va permettre de vérifier que les cellules se développent correctement dans le milieu de culture. Après une période d'incubation de 72 heures, un test colorimétrique est effectué.

Le nombre de cellules vivantes est quantifié grâce à du sel de tétrazolium MTT (bromure de 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium). Ce composé va réagir avec la succinate déshydrogénase contenue dans les mitochondries pour former du Formazan. Ce Formazan va former un précipité violet dans l'organite. Le Formazan est ensuite dissout dans de l'isopropanol.

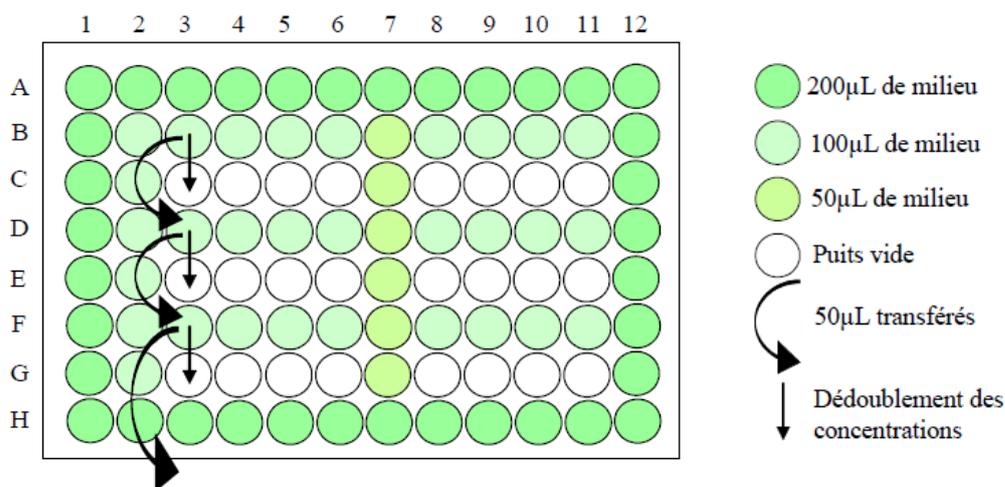
La lecture des résultats des tests se fait à l'aide d'un lecteur de plaques relié à un ordinateur. Il va mesurer la densité optique (DO) de tous les puits de J-0 et J-72.

La DO est proportionnelle à la quantité de cristaux solubilisés et donc au nombre de mitochondries métaboliquement actives des cellules cancéreuses. La différence de DO entre les puits de J-72 et de J-0 va nous permettre de savoir s'il y a effectivement eu une prolifération ou non des cellules cancéreuses. Une baisse de la DO montre une baisse du pourcentage de croissance et montre donc un effet sur le développement des cellules cancéreuses. Les données recueillies par le lecteur de plaques vont nous permettre de calculer la  $CI_{50}$  des souches testées.

La  $CI_{50}$  est la concentration inhibitrice de croissance. Elle détermine la concentration de produit qu'il faut pour inhiber 50 % de la croissance cellulaire.

**J-72** : Les cellules sont mises en phase exponentielle de croissance, la veille, par repiquage, à une concentration de  $2 \cdot 10^5$  cellules/mL pour NSCLC-N6 et  $4 \cdot 10^4$  cellules/mL pour A549 (la concentration cellulaire étant évaluée par comptage sur cellule de Malassez).

**J-0** : Une solution du produit est préparée. Elle est deux fois plus concentrée que la dose à tester. On prépare autant de plaques tout le temps de détermination de la croissance cellulaire. Chaque plaque est préparée de la façon suivante (Fig. 9) :



**Figure 9** : Principe du test de détermination de la  $CI_{50}$

Le premier puits de test recevra donc le composé dissous dans du milieu de culture à une concentration 6 fois par rapport à celle effectivement testée.

- **Distribution du milieu de culture** : 200  $\mu$ L sont distribués dans les puits ainsi que dans le blanc optique (colonne 2). 50  $\mu$ L sont distribués dans la colonne témoin (colonne 7) et dans 6 puits d'une plaque dite « J-0 » qui sera révélée le jour même de la préparation du test afin d'évaluer le nombre de cellules au temps  $t_0$ .
- **Distribution des produits** : 50  $\mu$ L de la solution de produit à tester, sont distribués dans une colonne. Chaque colonne va représenter une concentration de produit.
- **Distribution de la suspension cellulaire** : 50  $\mu$ L d'une suspension cellulaire à  $2 \cdot 10^5$  cellules/mL pour NSCLC-N6 et  $4 \cdot 10^4$  cellules/mL pour A549, sont ajoutés dans tous les puits (produits, colonne témoin, puits de la plaque J-0). Les plaques sont ensuite incubées à 37 °C sous 5 % de  $CO_2$  pendant un temps précis.

## **5. Méthodes utilisées pour la recherche des fractions actives**

De nombreux essais de fractionnement ont été menés en vue de séparer les constituants actifs. Les techniques utilisées incluent les chromatographies en phase normale sur gel de silice, la chromatographie sur couche mince et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

### **5.1. Chromatographie sur colonne**

#### **5.1.1. Chromatographie sur silice**

La séparation des lipides en classes est une méthode de séparation d'origine simplement empirique. La chromatographie d'adsorption sur gel de silice participe à la séparation en association avec d'autres phénomènes (solubilités). Des solvants purs sont uniquement utilisés : successivement le dichlorométhane, l'acétone et enfin, le méthanol. Un solvant laisse place au suivant lorsqu'il n'entraîne plus de produit. Dans ce processus, le seul véritable éluant chromatographique, au sens habituel, est le dichlorométhane qui va permettre de séparer successivement les hydrocarbures, puis les cires et esters de stéryles, les triglycérides et cela jusqu'aux stéroïdes et au-delà avec des produits relativement polaires, comme les éthers de glycérol. L'acétone peut également jouer un rôle d'éluant au sens classique.

- Fraction dichlorométhane : entraîne les lipides neutres, elle va permettre de séparer entre autre successivement les hydrocarbures, stéroïdes libres, vitamines etc.,
- Fraction acétonique : tous les glycolipides non hydrosolubles et aussi parfois certains alcaloïdes ou polypeptides (contrôle par révélateurs CCM appropriés),
- Fraction méthanolique : permettant d'éluer principalement les phospholipides.

En phase normale, la silice porte des groupements silanols (OH) polaires qui interfèrent avec les molécules à séparer. Lorsque le produit est élué sur une colonne de silice avec les systèmes de polarité croissante, différentes fractions sont recueillies. Celles-ci sont, ensuite, rechromatographiées sur couche mince (silice) et testées pour leurs activités biologiques, si l'activité est étalée sur plusieurs fractions, ces dernières sont ensuite rassemblées et font l'objet d'une autre séparation sur colonne.

Chaque fraction de classe obtenue a été concentrée à sec, pesée et conservée dans le dichlorométhane en vue de l'analyse chromatographique sur couche mince et ensuite par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG/SM).

### **5.1.2. Chromatographie flash**

L'échantillon solubilisé dans quelques mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> est déposé sur une colonne de silice (Interchimex) dans l'appareil Interchimex puriflash 430 Flash chromatographie. De même, les solvants utilisés sont dans l'ordre :

- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 100 % de 0 à 120 min
- Acétone 100 % de 120 à 200 min
- Méthanol 100 % de 200 à 260 min

Le débit choisi est de 5 mL/min, avec une collecte par tube de 20 mL et une détection à 280-250-600 nm).

### **5.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée pour l'ensemble des lipides neutres et des glycolipides obtenus à partir de la chromatographie sur colonne et en présence de composés témoins.

Le choix des solvants de migration, les témoins et les réactifs de révélation, est en fonction de la nature des composés constitutifs des fractions ainsi que de leur polarité.

Cette méthode est utilisée pour analyser et contrôler le bon fonctionnement de la séparation et les degrés de pureté des fractions recueillies.

Dans cette technique, on a utilisé des plaques chromatographiques (support : aluminium, adsorbant : gel de silice 60F254 60/15 µm, épaisseur de la couche : 200 µm, dimensions : 20x20 cm). La migration des molécules se fait en fonction de leur polarité.

En phase normale, les molécules polaires sont retenues alors que les molécules neutres ou peu polaires sont éluées par la phase mobile. Différentes proportions de mélanges de solvants sont utilisées afin de rechercher le meilleur solvant de migration. L'extrait chromatographié est celui qui présente une activité biologique importante. Après migration dans le solvant approprié, les bandes sont rendues visibles grâce à des procédés de révélation, en exposant la plaque constituée d'une fine couche de silice sur une plaque en polyster analytique (gel de silice 60 F254, 60Å, 15 µm, épaisseur 0,25), à une source de radiation ultraviolet (UV) à une longueur d'onde 254 nm et par l'utilisation des révélateurs chimiques : la vanilline sulfurique et l'orcinol (Annexe 2) qui révèlent la présence des glycololipides, des glycoconjugués et des alcaloïdes.

La CCM permet d'apprécier la qualité de la séparation par chromatographie sur colonne, de se renseigner sur la complexité de l'extrait étudié, de localiser les composés d'intérêt et d'orienter la stratégie de séparations ultérieures.

Pour ce qui est des fractions dichlorométhanes (lipides neutres), la CCM a été réalisée afin de visualiser les familles de produits et de rassembler les fractions qui contiennent la large majorité des stérols. Ces fractions sont analysées en comparaison avec des témoins, le cholestérol et l'acétate de cholestérol. La migration est faite dans un mélange de solvants hexane/éther éthylique/acide acétique (60:15:0,75, v/v/v). La révélation a été faite par pulvérisation de vanilline sulfurique, suivie d'un chauffage à l'étuve à 100 °C pendant quelque minute (5 à 10 min).

Quant aux fractions acétoniques (glycolipides), elles sont analysées en comparaison avec des témoins, galactocérobroside (Sigma-Aldrich, France) et l'extrait de glycolipides issu de feuilles d'épinard contenant trois glycolipides MGDG, DGDG et SQDG. La migration est faite dans un mélange de solvants dichlorométhane/méthanol (85:15, v/v). La révélation a été faite par pulvérisation d'orcinol, suivie d'un chauffage à l'étuve à 100 °C pendant quelque minute (5 à 10 min). Par ailleurs, la même analyse par CCM utilisant la vanilline sulfurique comme révélateur (Annexe 2), a été employée, permettant ainsi de vérifier qu'il n'y a pas de composés autres que des glycoconjugués.

### **5.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse permet à la fois de séparer des mélanges de composés et d'analyser les spectres correspondant aux pics séparés. Les composants peuvent être identifiés par comparaison avec des standards (temps de rétention obtenu, conditions de CPG et phase utilisée), ou avec les spectres de référence contenus dans une spectrothèque disponible avec l'appareillage, si les spectres de masse correspondants ressemblent à des composés connus. Autrement dit, le couplage CPG/SM offre en général de multiples possibilités analytiques. Cela signifie que toute substance volatile (jusqu'à 350 °C) qui émerge de l'extrémité d'une colonne de chromatographie est détectable par une méthode spectrométrique.

Les analyses des acides gras des lipides totaux (issus de saponification) des différentes algues étudiées, ont été réalisées sur un chromatographe Hewlett Packard 6890, constitué d'une colonne capillaire apolaire SLBTM-5 ms, d'une longueur de 60 m et d'un diamètre de 250 µm, la phase stationnaire a une épaisseur de 0,25 µm et le gaz vecteur utilisé est l'hélium avec une vitesse de circulation du gaz maintenue à 1 mL/min. Cet appareillage est couplé à un spectromètre de masse HP 6890 et les analyses ont été réalisées en impact électronique avec un

courant d'ionisation à 70 électron Volt (eV). Le système d'injection fonctionne en mode « split ». La température du détecteur est maintenue constante à 280 °C et celle de l'injecteur à 250 °C.

Les programmations de températures pour chaque type de composé sont les suivants :

- Pour les EMAG : Départ à 170 °C, stabilisation palier à 4 min puis augmentation de 3 °C/min jusqu'à 300 °C.
- Pour les NAP : Départ à 200 °C, stabilisation palier à 4 min puis augmentation de 3 °C/min jusqu'à 300 °C.
- Pour les stérols : Départ à 200 °C, augmentation de 3 °C/min jusqu'à 310 °C maintenue pendant 25 min.

## **II. Résultats et Discussion**

Le taux des lipides a été déterminé chez les 24 espèces d'algues récoltées afin de sélectionner les algues riches en lipide pour la suite des travaux.

### **1. Contenu en lipides totaux**

Les lipides totaux ont été obtenus à partir des poudres qui ont été immergées dans le mélange dichlorométhane/méthanol (1/1, v/v). Le taux de lipides obtenus de 24 espèces d'algues étudiées est représenté dans le tableau 1.

Le contenu de lipides totaux des 24 algues marines étudiées varie de 0,3 à 10 % de matière sèche. La teneur des lipides totaux varie entre 0,3 % et 10 % chez les rhodophycées, de 1 % à 4,4 % chez les phéophycées et de 0,5 % à 5 % chez les chlorophycées. En effet, le pourcentage des lipides totaux le plus élevé est observé chez les algues brunes en particulier chez *Bifurcaria bifurcata* avec une valeur de 4,4 %. Chez les algues vertes c'est *Codium elongatum* qui présente le pourcentage le plus élevé avec 5,4 %, alors que chez les algues rouges c'est *Gracilaria multipartita* avec une valeur de 10 % (Tableau 1).

**Tableau1** : Taux des lipides chez les algues marines récoltées sur la côte atlantique de Sidi Bouzid (El Jadida-Maroc)

	Algues	Taux des lipides % / MS
Phéophycées	<i>Laminaria digitata</i>	1,0±0,2
	<i>Bifurcaria bifurcata</i>	4,4 ±1
	<i>Fucus spiralis</i>	1,2±0,3
	<i>Cystoseira humilis</i>	1,0±0,2
	<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	1,4±0,3
	<i>Sargassum vulgare</i>	1,0±0
Rhodophycées	<i>Gelidium corneum</i>	0,8±0,1
	<i>Osmundea pinnatifida</i>	1,3±0,1
	<i>Gymnogongrus crenulatus</i>	0,8±0,2
	<i>Gracilaria cervicornis</i>	1,0±0
	<i>Gelidium pulchellum</i>	0,8±0,2
	<i>Plocamium cartilagineum</i>	2,0±0,4
	<i>Ellisolandia elongata</i>	0,3±0,1
	<i>Gracilaria multipartita</i>	10±2
	<i>Gigartina teedii</i>	3,51±0,3
	<i>Rhodymenia pseudopalmata</i>	3,49±0,4
	<i>Asparagopsis armata</i>	4,68±1
	<i>Corallina officinalis</i>	0,41±1
	<i>Halopitys incurvus</i>	0,4±0,3
	<i>Gigartina acicularis</i>	6,7±2
<i>Hypnea musciformis</i>	3,72±0,2	
Chlorophycées	<i>Ulva rigida</i>	0,5±0,1
	<i>Codium elongatum</i>	5,4±1
	<i>Enteromorpha intestinalis</i>	0,7±0,3

Cette variation en lipides totaux dépend essentiellement de l'état physiologique de l'algue, des changements saisonniers et géographiques, des conditions de croissance, de la température de l'eau, des nutriments, du pH, de la salinité et des facteurs environnementaux.

En effet le contenu en lipides totaux augmente lorsque l'intensité lumineuse diminue et semble diminué lorsque la profondeur augmente (Wielgosz-Collin et al., 2016).

Les algues en générale contiennent des lipides totaux (LT) qui varient de 1 à 6 % (Rodrigues et al., 2015). Le contenu en lipides totaux chez les phéophycées varie de 0,1 % à 20 % de matière sèche, chez les rhodophycées ce contenu varie de 0,02 % à 6,2 % de matière sèche, alors que le contenu des lipides totaux chez les chlorophycées varie de 0,5 % à 17,3 % de matière sèche (MS) (Wielgosz-Collin et al., 2016).

Ci-dessous, est représenté un tableau issu de la littérature (Wielgosz-Collin et *al.*, 2016) et en comparaison avec nos 24 espèces étudiées, il indique le taux de lipide selon le groupe d'algues (Tableau 2).

**Tableau 2** : Moyenne des lipides totaux accordés aux groupes d'algues

Groupe	Nombre des espèces référencées	Moyenne LT référencées (% MS)	Moyenne LT des espèces étudiées (% MS)
Phéophycées	187	3,0 (0,1-20,0)	1,6 (1,0-4,4)
Rhodophycées	221	1,4 (0,02-6,2)	2,61 (0,3-10)
Chlorophycées	101	3,9 (0,5-17,3)	2,2 (0,5-5,4)

Dans notre étude, ce sont les algues rouges qui présentent en moyenne le plus fort taux de lipide.

Les lipides s'associent sous diverses formes dans la cellule soit par des liaisons faibles : associations hydrophobes (Van der Waals) entre les lipides neutres et les lipides complexes, des liaisons hydrogènes, association électrostatiques liant des lipides polaires à des protéines, soit des liaisons covalentes c'est-à-dire des acides gras liés à l'état d'esters, amides, glycosides, aux polysaccharides (Kendel, 2012).

L'extraction des lipides chez les algues a fait l'objet de plusieurs études, et la nature des lipides extraits est en fonction des solvants d'extraction. On distingue trois types de lipides :

- **Lipides neutres** : exigent des solvants non ou peu polaires pour la rupture d'association hydrophobes.
- **Lipides polaires** : exigent des solvants polaires (alcools) pour rompre les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques.
- **Lipides liés par liaisons fortes (covalences)** : ne peuvent être directement extraits par des solvants, les liaisons sont coupées par hydrolyse acide ou alcaline.

La plupart des méthodes d'extraction sont basées sur les méthodes originales devenues classiques (Bligh et Dyer, 1959) utilisant un mélange de solvants polaires et non polaires afin d'atteindre et entraîner les molécules amphiphiles. La méthode de Bligh et Dyer est la plus utilisée et particulièrement adaptée aux organismes marins car souvent l'eau de mer reste dans les échantillons d'algues.

### 1.1. Les algues brunes

La moyenne des lipides totaux chez les algues brunes étudiées varie entre 1 % et 4 % chez la famille des sargassaceae qui est représentée par 5 espèces et 1 % chez la famille des

laminariacées représentée par une seule espèce (Tableau 2). En effet le plus grand pourcentage des lipides totaux est observé seulement chez l'espèce *Bifurcaria bifurcata* qui appartient à l'ordre des fucales et qui contient 4 % des lipides totaux, suivie par *Cystoseira tamariscifolia* qui contient 1,4 % des lipides totaux. Nos résultats sont en accord avec les taux annoncés dans la littérature (Tableaux 1 et 3).

Dans la littérature, le contenu moyen en LT pour les algues brunes est de 3 % de matière sèche, variant de 0,1 % chez *Leathesia marina* (Renaud et Luong-Van, 2006) à 20 % chez *Dictyota sandvicensis* (McDermid et Stuercke, 2003). Les teneurs les plus élevées en LT ont été mesurées chez cinq espèces appartenant à l'ordre Dictyotales à savoir, *Dictyota acutiloba*, *Dictyota bartayresii*, *Dictyota dichotoma*, *Dictyota sandvicensis* et *Spatoglossum macrodontum* contenant entre 10 % et 20 % de LT de matière sèche (McDermid et Stuercke, 2003 ; Gosch et al., 2012). De plus, Nomura et al. (2013) ont montré que deux espèces de Fucalae à savoir, *Sargassum horneri* (Cultivée) et *Stephanocystis hakodatensis* ont un maximum de LT de 14 % et 16 % de MS, respectivement.

**Tableau 3 :** Moyenne des lipides totaux chez les algues brunes (Wielgosz-Collin et al., 2016)

<b>Ordre des Ochrophyta</b>	<b>Famille</b>	<b>Moyenne LT (% MS) Référencées</b>	<b>Moyenne LT (% MS)</b>
Fucales	Sargassacées	3,0 (0,1-20,0)	2 (1,0-4,4)
Laminariales	Laminariacées		1

### **1.2. Les algues vertes**

Les espèces d'algues vertes étudiées contiennent en moyenne 5 % de lipides totaux chez la famille des codiacées et 0,5 % chez la famille des ulvacées, ceci est conforme avec les taux annoncés dans la littérature. Le pourcentage le plus élevé est observé chez l'ordre des bryopsidales représenté par *Codium elongatum* qui contient 5,4 % des lipides totaux. Par contre l'ordre des ulvales représenté par *Ulva rigida* et *Enteromorpha intestinalis* contiennent respectivement 0,5 % et 0,7 % de lipides totaux (Tableaux 1 et 4).

En revanche, en littérature le taux de LT dans les algues vertes semble être caractéristique de l'ordre (Wielgosz-Collin et al., 2016). Parmi les trois ordres les plus étudiés, bryopsidales et cladophorales ont 5,4 % et 4,1 % de LT, respectivement. Les Ulvales ont un taux moyen de 2,2 %. Chez les bryopsidales, *Codium duthiae* (17,3 %) (Xu et al., 1998) et

*Derbesia tenuissima* (12,2 %) (Gosch et al., 2012 ; Magnusson et al., 2014) ont la teneur la plus élevée de LT.

**Tableau 4** : Moyenne des lipides totaux chez les algues vertes (Wielgosz-Collin et al., 2016)

Ordre des Chlorophyta	Familles	Moyenne LT (% MS) Référencées	Moyenne LT des espèces étudiées (% MS)
Bryopsidales	Codiacées	7,2 (1,4-17,3)	5,4
Ulvales	Ulvacées	2,2 (0,7-5,1)	0,5 et 0,7

### 1.3. Les algues rouges

Les algues rouges étudiées et représentées par 6 familles montrent une moyenne de pourcentage de lipides totaux qui varie de 0,3 % à 5,0 %. En effet l'ordre des Gracilariales représenté par *Gracilaria multipartita* indique un pourcentage en lipides totaux de 10 % qui est le plus élevé. Nos résultats semblent conformes avec les teneurs en lipides totaux annoncés dans la littérature (Tableaux 1 et 5).

Dans la littérature la teneur en lipides des algues rouges est très variable entre les différentes espèces d'algues marines et même au sein de la même espèce. La teneur en lipides totaux varie de 0,1 % à 6,2 % de matière sèche (Wielgosz-Collin et al., 2016).

**Tableau 5** : Moyenne des lipides totaux chez les algues rouges (Wielgosz-Collin et al., 2016).

Ordre des Rhodophyta	Famille	Moyenne LT référencées (% MS)	Moyenne LT des espèces étudiées (% MS)
Corallinales	Corallinacées	0,8 (0,1-2,3)	0,35
Gracilariales	Gracilariacées	1,6 (0,1-5,2)	5,5
Ceramiales	Rhodomelacées	1,5 (0,05-6,2)	2,39
Gelidiales	Gelidiacées	0,9 (0,5-1,4)	0,8
Plocamiales	Plocamiacées	3,3 (1,9-3,6)	2
Gigartinales	Phyllophoracées	1,2 (0,2-1,9)	3,68

## 2. Saponification des lipides des algues étudiées

Les résultats obtenus de l'analyse des lipides totaux de 24 espèces d'algues récoltées témoignent de la richesse des algues en lipides totaux. Six algues les plus abondantes et non exploitées à ce jour (*Bifurcaria bifurcata*, *Ellisolandia elongata*, *Plocamium cartilagineum*, *Gracilaria cervicornis*, *Halopitys incurvus*, *Laminaria digitata*) ont été choisies pour une étude

plus approfondie. Une étude des acides gras et de l'insaponifiable des lipides a été effectuée sur ces six espèces d'algues en vue de leur valorisation nutritionnelle ou médicale.

### **2.1. Distribution des acides gras totaux chez les différents groupes d'algues**

L'analyse et l'identification des acides gras totaux par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG/SM) se font à partir de la position des pics chromatographiques et elles reposent sur la prise en compte de deux données : l'examen des spectres de masse de l'ester méthylique d'acides gras (EMAG) et du *N-acyl* pyrrolidide (NAP), ainsi que la position dans le chromatogramme et la longueur de chaîne équivalente (LCE). Afin d'obtenir ces acides gras totaux, une saponification est réalisée qui permet d'accéder aux fractions insaponifiable (contenant les stérols) et aux fractions saponifiable contenant les acides gras sous forme de sels RCOOK. Les acides sont obtenus à partir de ces sels puis dérivés (EMAG, NAP) pour être analysés en CPG/SM (Annexe 6).

Le contenu des acides gras totaux (saturés et insaturés) des six espèces de macroalgues sélectionnées est exprimé en pourcentage de poids sec (% de MS) et présenté dans les tableaux 6-7 et dans la figure 10. Les algues contiennent une variété d'acide gras, mais l'acide gras saturé le plus commun chez les trois groupes d'algues est l'acide palmitique (16:0) (Gressler et *al.*, 2010). C'est ce qu'on observe dans nos résultats. Ce sont les acides gras saturés qui sont les plus abondants avec un pourcentage qui atteint 59 % de l'extrait lipidique chez l'algue rouge *Gracilaria cervicornis*. Ceci est conforme avec les taux annoncés dans la littérature. Ce qui est moins classique c'est de retrouver 52 % d'acides gras saturés chez *Laminaria digitata*, alors que les Laminariales sont réputées pour avoir un faible taux d'acide gras saturés (30 %) (Wielgosz-collin et *al.*, 2016). Du fait de ce taux aussi élevé, la quantité d'acide gras polyinsaturés chez *Laminaria digitata* est faible (20 %), alors qu'il devrait plutôt être de l'ordre de 50 %. Les algues sont caractérisées par une teneur élevée en acides gras poly-insaturé (AGPI) avec un taux moyen proche de 40 % chez les algues brunes et légèrement inférieur à 40 % (environ 36 %) chez les algues rouges. Les acides gras polyinsaturés sont particulièrement faiblement représentés (10 %) chez *Gracillaria cervicornis*. Ce qui augmente le taux d'acides mono-insaturés à 26 % pour cette espèce. Les acides gras mono-insaturés majoritaires pour l'ensemble des espèces sont les (9-16:1) et (9-18:1).

Plus précisément, sont présents chez les algues, l'acide  $\alpha$ -linoléique (18:3n-3), stéaridonique (18:4n-3, STA), arachidonique (20:4n-6, ARA) et l'acide eicosapentaénoïque (20:5n-3, EPA) (Dawczynski et *al.*, 2007). C'est la raison pour laquelle ils présentent un intérêt

## **PARTIE II : Composition lipidique : activité antiproliférative**

considérable (Khotimchenko et Kulikova, 1999) puisque ces acides sont des éléments nutritifs essentiels chez l'homme et les animaux (Newton, 1996).

Tableau 6 : Composition des acides gras saturés des différentes algues étudiées

Algues Acides gras Saturés	<i>Laminaria digitata</i>	<i>Bifurcaria bifurcata</i>	<i>Halopitys incurvus</i>	<i>Ellisolandia elongata</i>	<i>Gracilaria cervicornis</i>	<i>Plocamium cartilagineum</i>
<b>14:0</b>	5,51±0,20	5,5±0,62	5,07±0,20	2,51±0,60	4,46±0,78	8,32±0,54
<b>4,8,12-Me-13:0</b>	ND	ND	ND	0,35±0,07	ND	ND
<b>i-15:0</b>	TR	ND	TR	0,41±0,11	TR	TR
<b>ai-15:0</b>	TR	ND	TR	0,21±0,10	TR	TR
<b>15:0</b>	0,34±0,01	0,32±0,13	0,44±0,02	1,12±0,12	0,68±0,16	0,37±0,13
<b>br-15:0</b>	ND	ND	0,28±0,04	ND	ND	ND
<b>16:0</b>	42,44±0,03	28,91±2,31	35,49±0,75	36,00±1,41	38,03±1,77	39,56±1,2
<b>i-17:0</b>	TR	ND	TR	0,38±0,10	0,41±0,16	TR
<b>ai-17:0</b>	TR	ND	TR	0,73±0,47	0,34±0,21	TR
<b>17:0</b>	0,21±0,01	ND	0,41±0,02	1,11±0,26	2,97±0,32	TR
<b>lactone</b>	TR	ND	0,31±0,01	ND	ND	0,50±0,01
<b>lactone</b>	0,26±0,02	ND	0,58±0,03	ND	ND	1,10±0,11
<b>3-Me-17:0</b>	ND	ND	0,43±0,01	ND	ND	ND
<b>18:0</b>	2,17±0,16	1,40±0,18	2,29±0,23	7,93±0,59	9,38±0,76	2,08±0,14
<b>DMA 18:0</b>	ND	ND	ND	0,51±0,03	0,57±0,19	ND
<b>20:0</b>	1,42±0,06	1,59±0,55	0,57±0,06	0,59±0,01	1,02±0,16	0,51±0,05
<b>22:0</b>	TR	0,79±0,03	0,21±0,02	0,23±0,03	0,27±0,11	0,48±0,02
<b>24:0</b>	TR	0,25±0,02	0,26±0,01	0,21±0,01	0,38±0,05	0,41±0,01
<b>Total</b>	<b>52,4±0,49</b>	<b>38,8±3,8</b>	<b>46,3±1,4</b>	<b>52,3±3,9</b>	<b>58,5±4,7</b>	<b>53,3±1,0</b>

ND : non déterminé TR : trace

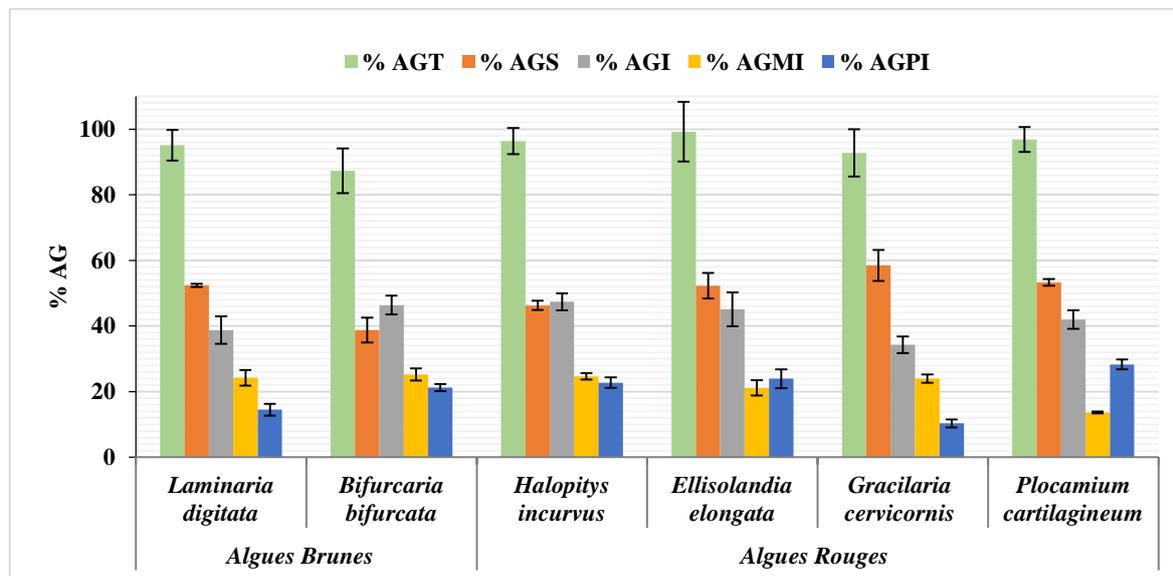
**PARTIE II : Composition lipidique : activité antiproliférative**

**Tableau 7 : Composition des acides gras insaturés des différentes algues étudiées**

Algues Acides gras insaturés	<i>Laminaria digitata</i>	<i>Bifurcaria bifurcata</i>	<i>Halopitys incurvus</i>	<i>Ellisolandia elongata</i>	<i>Gracilaria cervicornis</i>	<i>Plocamium cartilagineum</i>
<b>16:4</b>	ND	ND	ND	ND	ND	0,46±0,03
<b>5-16:1</b>	TR	ND	TR	TR	TR	0,34±0,04
<b>9-16:1</b>	3,76±0,24	5,00±0,34	9,43±0,38	3,87±0,26	6,53±0,26	5,21±0,60
<b>16:1</b>	0,55±0,14	ND	0,15±0,03	ND	TR	0,76±0,09
<b>17:1</b>	0,43±0,04	ND	0,76±0,05	ND	ND	TR
<b>9, 12, 15-18:3</b>	0,28±0,01	ND	ND	0,98±0,10	0,82±0,22	ND
<b>18:4</b>	1,48±0,08	TR	ND	ND	ND	ND
<b>6,9-18:2</b>	ND	1,32±0,09	TR	ND	ND	0,62±0,02
<b>9,12-18:2</b>	3,62±0,33	2,95±0,09	0,85±0,05	2,71±1,20	1,17±0,28	0,81±0,07
<b>9-18:1</b>	17,43±1,68	17,13±1,26	5,49±0,27	5,62±1,53	8,06±0,41	3,19±0,10
<b>11-18:1</b>	1,85±0,21	1,76±0,08	7,51±0,18	5,16±0,13	7,42±0,16	3,39±0,37
<b>13-18:1</b>	0,22±0,07	ND	0,27±0,02	ND	ND	ND
<b>18cj</b>	0,43±0,15	ND	ND	ND	ND	ND
<b>18cj</b>	0,41±0,20	ND	ND	ND	ND	ND
<b>chaîne avec cycle 11,12-methyleneoctadecanoate</b>	0,38±0,12	ND	4,43±0,16	ND	ND	ND
<b>20:4(n-6)</b>	5,34±0,63	10,15±0,32	7,72±0,64	5,75±0,42	1,38±0,21	6,58±0,31
<b>20:5(n-3) EPA</b>	1,53±0,17	1,93±0,10	7,96±0,58	6,64±0,41	6,03±0,40	15,78±0,99
<b>5,11-20:2</b>	ND	ND	ND	3,04±0,18	ND	ND
<b>8, 11, 14-20:3</b>	0,46±0,03	1,89±0,21	0,71±0,09	TR	ND	3,01±0,03
<b>20:4</b>	0,36±0,03	1,65±0,12	0,46±0,06	TR	ND	0,65±0,05
<b>11,14-20:2</b>	0,23±0,03	1,33±0,15	0,47±0,03	0,69±0,03	ND	0,37±0,02
<b>7-20:1</b>	ND	ND	ND	1,27±0,05	ND	ND
<b>11-20:1</b>	ND	1,33±0,15	0,56±0,02	1,88±0,09	1,36±0,26	0,59±0,04
<b>13-20:1</b>	ND	ND	0,23±0,02	1,88±0,09	ND	ND
<b>22 :6 (n-3) DHA</b>	ND	ND	0,15±0,02	1,35±0,11	ND	ND
<b>22:4</b>	ND	ND	ND	0,21±0,04	0,38±0,07	ND
<b>22:5</b>	ND	ND	ND	0,56±0,09	0,55±0,05	ND
<b>22:3</b>	ND	ND	ND	0,28±0,08	ND	ND
<b>7,13-22:2</b>	ND	ND	TR	0,49±0,08	ND	ND
<b>7,15-22:2</b>	ND	ND	ND	1,24±0,13	ND	ND
<b>13-22:1</b>	TR	ND	TR	1,11±0,14	0,30±0,13	TR
<b>15-24:1</b>	TR	ND	0,26±0,02	0,33±0,04	0,33±0,06	0,19±0,03
<b>Total</b>	<b>38,8±4,2</b>	<b>46,4±2,9</b>	<b>47,4±2,6</b>	<b>45,1±5,2</b>	<b>34,3±2,5</b>	<b>42,0±2,8</b>

ND : non déterminé TR : trace

La proportion de acides gras saturés et insaturés a été analysée en fonction de la famille des macroalgues (Fig. 10).



**Figure 10 :** Moyenne des % d'acides gras saturés (AGS), monoinsaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) en fonction des différentes espèces d'algues étudiées par rapport aux acides gras totaux-AGT)

### 2.1.1. Les algues brunes

L'acide gras polyinsaturé majoritaire est l'acide arachidonique (20:4(n-6)), il représente une valeur de 5 % de l'extrait lipidique chez *Laminaria digitata* et 10 % chez *Bifurcaria bifurcata* (Tableaux 6-7). Nous retrouvons aussi l'acide linoléique (18:2n-6) avec un taux moyen de 3 %. Cependant aucun acide gras 18:3 de la série n-3 ou n-6 n'est présent.

Parmi les six principaux AGPI, quatre, à savoir, LA, ALA, ARA, et l'EPA, sont considérés comme AG essentiels pour l'homme, car ils ne sont pas synthétisés en quantités insuffisantes (Leray, 2014). Le STA (l'acide stéaridonique, 18:4n-3) semble être caractéristique des milieux aquatiques car il est rarement trouvé chez les plantes terrestres (Holdt et Kraan, 2011). Nous retrouvons cet acide gras 18:4n-3 que chez *Laminaria digitata* (1,5 %). L'EPA quant à lui est présent avec un taux inférieur à 2 % et nous n'avons pas de DHA, même chez la Fucale *Bifurcaria bifurcata*.

Dans la littérature, chez les algues brunes le contenu des acides gras totaux variait de 1,0 % chez *Saccharina latissima* à 6,4 % chez *Pelvetia canaliculata*. Autres algues brunes avec des teneurs élevées en acides gras totaux inclus *Fucus dentelé*, *Fucus vesiculosus* et *Ascophylle noueux*, présentent des valeurs allant de 2,3 à 4,6 % (Schmid et al., 2014). Les acides gras

saturés (AGS) et polyinsaturés (AGPI) sont les principaux acides gras (AG) puisque leur somme représente environ 80 % des acides gras totaux (AGT) (40 % chacun). Les C18 et C20 AGPI sont également synthétisés et représentent chacun 20 % d'AGT (Wielgosz-Collin et *al.*, 2016). Ceci semble non conforme à nos résultats où les deux espèces étudiées représentent un pourcentage d'AGPI d'environ 15 % chez *Laminaria digitata* avec 25 % de C18 et 8 % de C20, et d'environ 21 % d'AGPI chez *Bifurcaria bifurcata* avec 23 % de C18 et 18 % de C20.

### **2.1.2. Les algues rouges**

Les profils d'acides gras (% AGT) des quatre algues rouges sont présentés dans les tableaux 6 et 7. Chez les algues rouges, nous retrouvons classiquement les deux acides gras polyinsaturés à 20 carbones prédominant dans cette classe, à savoir l'ARA et l'EPA. L'ARA est présent à plus de 6 % sauf chez *Gracilaria cervicornis*.

Chez *Plocamium cartilagineum* l'EPA (20:5(n-3)) est présent à 16 % de l'extrait lipidique. C'est un acide gras potentiellement intéressant pour ses propriétés en santé et nutrition (Newton, 1996 ; Pérez et *al.*, 2001 ; Plaza et *al.*, 2009).

*Halopitys incurvus* contient 8 % d'EPA, *Ellisolandia elongata* 7 % et *Gracilaria cervicornis* 6 % des acides gras totaux.

*Ellisolandia elongata* est la seule espèce contenant le DHA à plus de 1 % (1,4 %).

Dans la littérature, le contenu des acides gras totaux chez les algues rouges variait de 0,8 à 1,7 % chez *Porphyra dioica* (Schmid et *al.*, 2014). En général, les espèces d'algues rouges contiennent des quantités importantes d'acides gras polyinsaturés à 20 atomes de carbone, avec quatre ou cinq doubles liaisons. Les deux principaux AG polyinsaturés sont donc ARA et EPA (5, 8, 11, 14, 17-20:5) et qui représentent 40 % à 50 % des acides gras totaux (Schmid et *al.*, 2014). Le DHA n'est pas souvent détecté dans les algues rouges et lorsqu'il est présent il existe à faible concentration (Dawczynski et *al.*, 2007) ce qui est conforme avec nos résultats. Les autres acides gras abondants dans cette classe sont l'acide palmitique (16:0) et l'acide oléique (18:1) (Tasende, 2000) (Tableaux 6-7).

## **2.2. Analyse des fractions insaponifiables (stérols)**

Les stérols sont connus pour leur rôle essentiel dans les processus de croissance et de reproduction. Ils interviennent également dans l'édification de la membrane cellulaire ou ils participent à la régulation de la perméabilité et la fluidité. Les stérols constituent également le point de départ de la synthèse d'une large gamme de métabolites secondaires (Véron, 1999).

La composition stérolique des chlorophycées est très variée. En effet, le cholestérol est considéré comme étant le stérol le plus commun au sein des algues rouges, tandis que le fucostérol se retrouve dans la majorité des algues brunes. Néanmoins, ces deux composés sont souvent associés à quelques stérols minoritaires (Kendel, 2012).

L'analyse par couplage CPG/SM et l'identification des fractions insaponifiables des six algues étudiées ont été faites à partir de la position des pics chromatographiques et sur l'examen des spectres de masse. L'analyse de la composition des fractions insaponifiables a été représentée dans le tableau 8.

Ainsi, il a été observé que la composition en insaponifiable de *Laminaria digitata* varie de 0,1 % à 35,25 % avec deux composés majoritaires qui sont le phytol (35,25 %) généralement utilisé en tant que précurseur pour la synthèse industrielle de vitamines E et K (Netscher, 2007) et le fucostérol (20,73 %) qui est un phytostérol qui se trouve dans la majorité des algues brunes et qui possède une activité antioxydante capable de piéger les radicaux libres causant les blessures dermatites induites par l'hypoxie et qui endommage la peau (Sun et al., 2015). Il possède également une activité antidiabétique qui provoque une inhibition du taux de glucose dans le sang et la dégradation du glycogène (Lee et al., 2004). En plus des activités anticancéreuse, anti-hypertensions et anti-inflammatoires (Lee et al., 2004 ; Kim et al., 2011).

L'analyse de la composition des fractions insaponifiables des différents extraits d'algues étudiés a montré la présence des hydrocarbures qui présentent de 2,5 % à 13,5 % de l'insaponifiable chez la moitié d'entre elles. Le taux très important assez inhabituel de 13,5 % se trouve chez *Ellisolandia elongata*. La proportion de squalène est assez faible. Le maximum retrouvé est chez *Halopityis incurvus* (1,4 %).

Notons une forte présence de phytol, dans quatre des six algues étudiées. Chez *Plocamium cartilagineum*, celui-ci représente presque 80 % de l'insaponifiable.

*Gracilaria cervicornis* a la composition la plus simple et la plus atypique, puisque que le stérol majoritaire n'est pas le cholestérol comme dans la plupart des algues rouges, mais le  $\Delta^5,22-27:2$  (68 %).

Chez les algues brunes, nous retrouvons bien le fucostérol comme stérol majoritaire (91 % chez *Bifurcaria bifurcata*), hormis chez *Halopityis incurvus* dont le stérol majoritaire est le desmostérol avec 22 % de l'extrait lipidique, ce dernier est un précurseur biosynthétique immédiat du cholestérol et qui peut remplacer le cholestérol dans un grand nombre de cas (Singh et al., 2011).

Tableau 8 : Composition de l'insaponifiable des différentes algues étudiées

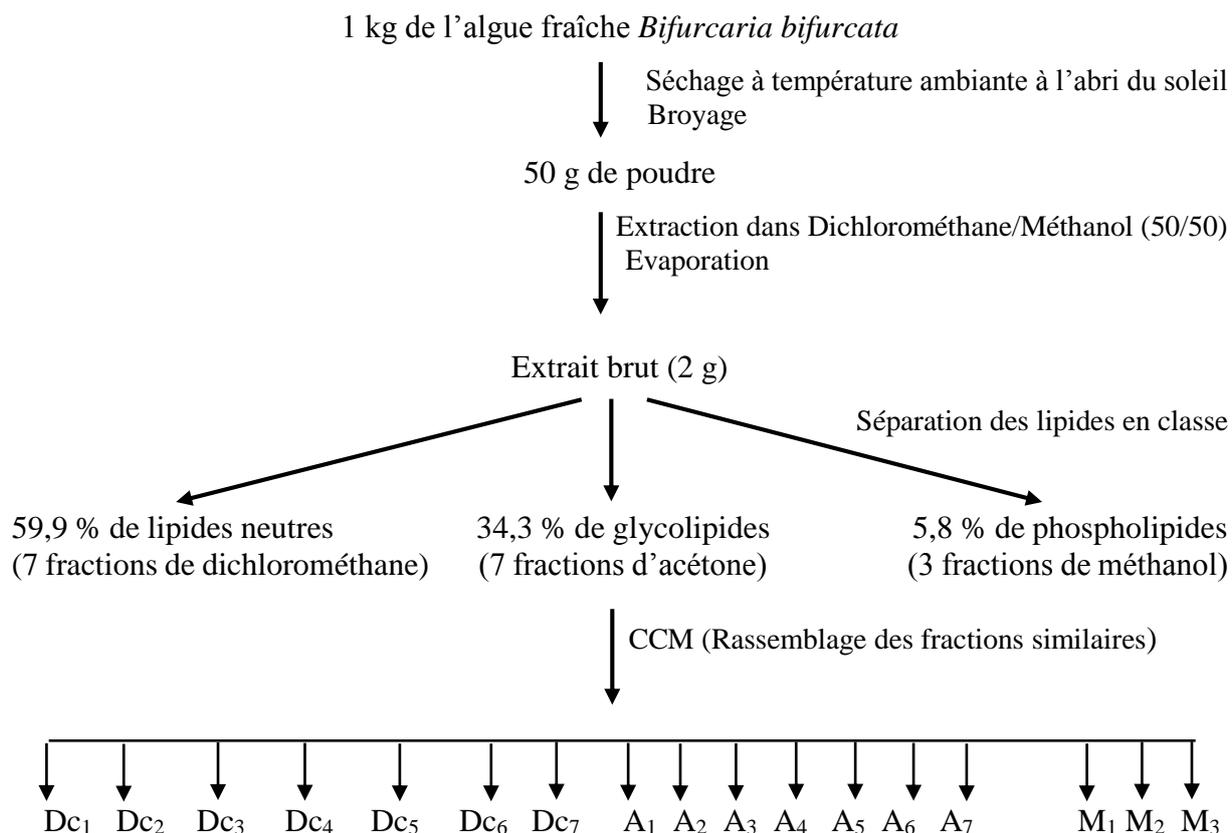
Algues Stérols	<i>Laminaria digitata</i>	<i>Bifurcaria bifurcata</i>	<i>Halopitys incurvus</i>	<i>Plocamium cartilagineum</i>	<i>Ellisolandia elongata</i>	<i>Gracilaria cervicornis</i>
Phytol	58,87±3,99	ND	62,94±3,61	79,15±2,87	23,30±2,49	ND
Squalène	0,41±0,41	0,06±0,04	1,41±0,16	ND	TR	ND
Cholestérol	ND	0,29±0,07	7,70±0,24	16,95±0,27	40,89±3,54	26,50±0,27
Desmostérol	ND	ND	21,95±0,84	1,59±0,02	ND	ND
24-méthylcholestérol	ND	ND	ND	0,73±0,01	ND	ND
Cholest-4-èn-3-one	ND	ND	ND	1,51±0,27	3,24±0,46	ND
Δ5-30:1	ND	ND	ND	ND	ND	5,46±0,61
Δ5,22-27:2	ND	ND	ND	ND	ND	68,02±3,17
Cholesta-4,6 dièn-3-one	ND	ND	2,41±1,13	ND	19,00±3,59	ND
29:2	ND	0,50±0,15	ND	ND	ND	ND
29:3	ND	0,38±0,00	ND	ND	ND	ND
30:1	ND	6,11±0,32	ND	ND	ND	ND
Δ5,24(28)-28:2	4,16±1,76	0,79±0,65	ND	ND	ND	ND
Fucostérol	34,62±3,95	91,18±0,93	ND	ND	ND	ND
<b>Hydrocarbure linéaire</b>						
22:0	ND	ND	ND	ND	0,67±0,50	ND
23:0	ND	ND	ND	ND	2,15±0,96	ND
24:0	0,18±0,20	ND	0,75±0,32	ND	2,00±0,39	ND
25:0	0,19±0,21	ND	0,68±0,39	ND	1,49±0,10	ND
26:0	0,28±0,30	ND	0,55±0,09	ND	1,50±0,08	ND
27:0	0,33±0,34	ND	0,49±0,07	ND	1,68±0,07	ND
28:0	0,45±0,47	ND	0,50±0,12	ND	1,90±0,06	ND
29:0	0,50±0,51	ND	0,38±0,09	ND	2,13±0,18	ND
30:0	0,22±0,23	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Somme hydrocarbure</b>	<b>2,15</b>	ND	<b>3,35</b>	ND	<b>13,52</b>	ND

ND : non déterminé TR : trace

### 3. Fractionnement lipidique de l'extrait de *Bifurcaria bifurcata*

Une analyse plus approfondie a été réalisée sur l'espèce *Bifurcaria bifurcata* qui représente un taux de lipide de 4,4 %. Cette espèce est très abondante durant toute l'année par rapport à *Gracilaria cervicornis* (10 % de lipides totaux) et à *Codium elongatum* (5,4 % de lipides totaux) au niveau du site de récolte et non exploitée actuellement. La séparation et le fractionnement des lipides totaux de cette espèce ont été étudiés en vue de leur utilisation dans le domaine médical en tant que potentiel anticancéreux ou antibactérien.

La séparation des lipides en classe, a donné un pourcentage de 59,9 % de lipides neutres (7 fractions de dichlorométhane), 34,3 % de glycolipides (7 fractions d'acétone) et 5,8 % de phospholipides (3 fractions de méthanol) (Fig. 11).

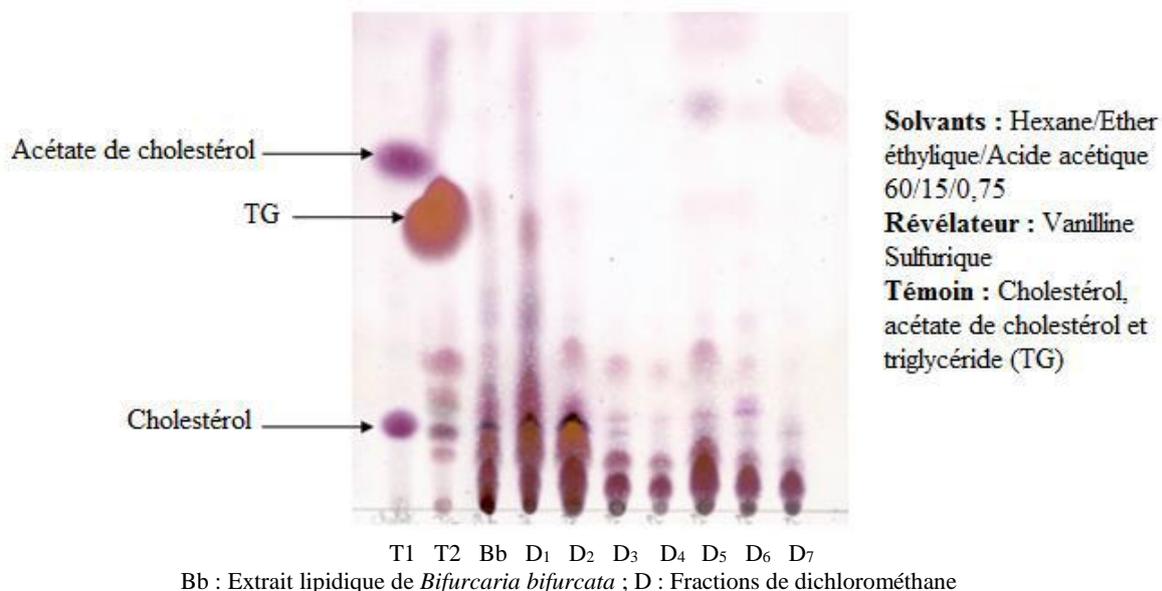


**Figure 11** : Schéma de fractionnement de l'algue *Bifurcaria bifurcata*

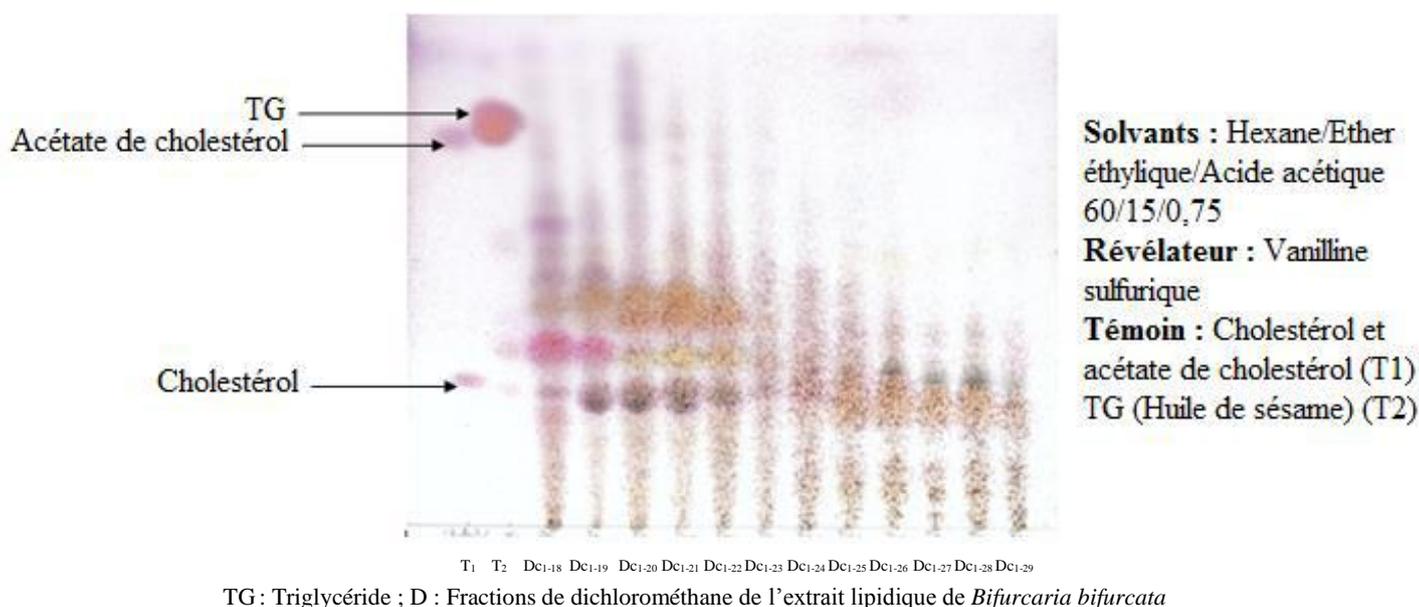
### 3.1. Analyse des fractions des lipides neutres chez *Bifurcaria bifurcata*

Les lipides neutres (fractions dichlorométhane) de l'extrait de *Bifurcaria bifurcata* ont été analysés dans un premier temps par chromatographie sur couche mince et comparés aux témoins cholestérol et acétate de cholestérol (Fig. 11-12-13), ainsi qu'aux témoins triglycérides (TG), acides gras libres (AGL), monoglycérides (MG) et diglycérides (DG) (Fig. 12).

L'identification structurale a été faite par CPG/SM par examen des spectres de masse des stérols libres ainsi que d'autres composés présents des lipides neutres.



**Figure 12** : Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des lipides neutres de l'algue *Bifurcaria bifurcata*



**Figure 13** : Chromatographie sur couche mince analytique du deuxième fractionnement de la fraction D1 issu des lipides neutres de l'algue *Bifurcaria bifurcata*

Les résultats de cette analyse ont confirmé que l'algue *Bifurcaria bifurcata* contient principalement des stérols et pas de phytol, mais nous pouvons voir aussi des acides gras libres et une petite quantité de triglycéride dans la fraction D1 (Fig. 12 et 13).

### 3.2. Recherche des fractions responsables de l'activité antibactérienne de *Bifurcaria bifurcata*

Certains stérols peuvent avoir un effet bénéfique sur la santé humaine puisqu'ils possèdent diverses activités biologiques telles que des activités hypercholestérolémiques, antioxydantes, anticancéreuses, antidiabétiques, antihypertensives, anti-inflammatoires, antifongiques et antibactériennes (Kim et Ta, 2011 ; Long et *al.*, 2017).

Les différentes fractions obtenues de *Bifurcaria bifurcata* sont testées comme antibactérien contre *Dickeya dadantii*.

**Tableau 9** : Activité antibactérienne des différentes fractions de *Bifurcaria bifurcata*

Fractions	Diamètre d'inhibition (mm)	
M1	6 ± 0	
M2	11 ± 1,7	
M3	9 ± 1,7	
Dc1	<b>19</b> ± 1,7	
Dc2	9 ± 3	
Dc5	<b>12</b> ± 2,6	
Dc6	10 ± 2	
A4	8 ± 3	
A1	A1-1	8 ± 1,7
	A1-2	<b>13</b> ± 3,5
	A1-3	<b>12</b> ± 2
	A1-5 à A1-7	<b>13</b> ± 2,6
	A1-8	11 ± 1
	A1-9	8 ± 1,7
	A1-10 à A1-13	9 ± 1
	A1-14 à A1-17	9 ± 1,7
	A1-18 à A1-23	<b>18</b> ± 1,7
	A1-24 à A1-27	6 ± 0
A1-28 à A1-29	11 ± 1	
A1-30 à A1-31	10 ± 1,7	
M	11 ± 1	

M : Méthanol, D : Dichlorométhane, A : Acétone

Les fractions Dc1, Dc5, A1-2, A1-3, A1-5 à A1-7 et A1-18 à A1-23 présentent les meilleurs résultats avec un diamètre d'inhibition qui varie entre 12 et 19 mm (Tableau 9). Nous avons donc procédé à un deuxième fractionnement pour la fraction Dc1. De plus cette fraction notamment contenait presque 700 mg d'extrait et Dc5 juste 10 mg.

**Tableau 10** : Activité antibactérienne des différentes sous fraction obtenues de la fraction Dc1 de *Bifurcaria bifurcata*

Fractions	Diamètre d'inhibition (mm)	Nature des composés vus par CCM
Dc1-1	7 ± 0	
Dc1-5	6,7±0,6	
Dc1-6	7,7±1,2	
Dc1-8	7,7±0,6	
Dc1-10	8,7±0,6	
Dc1-12	8±1,7	
Dc1-14	10±4,4	Triglycéride
Dc1-15	7,3±0,6	
Dc1-16	8±1,7	
Dc1-18	9,7±3,1	Acides gras libres
Dc1-19	7±0	
Dc1-21	8±1	
Dc1-24	8,3±1,5	
Dc1-27	10,3±0,6	Stérols
IJA	8,3±1,5	
IJG	8±2,6	

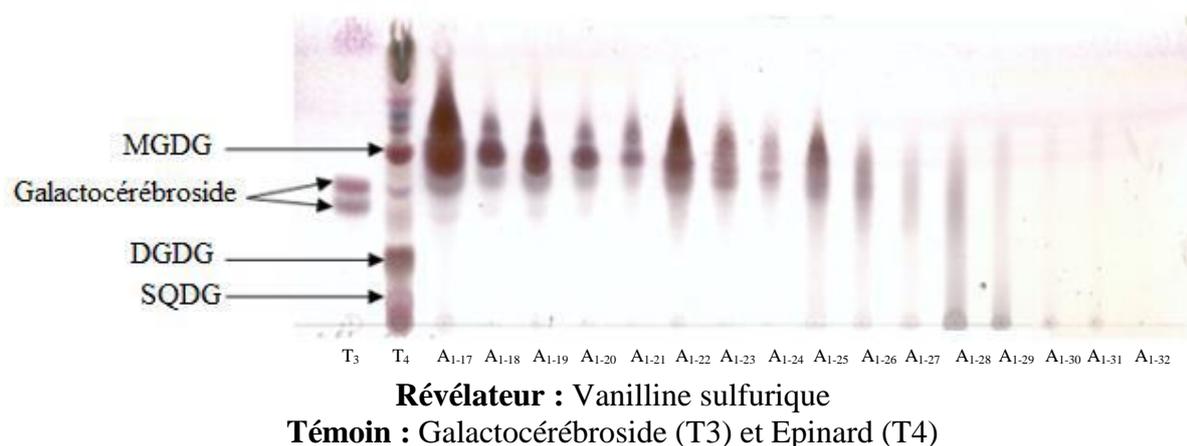
La fraction Dc1 représentant un mélange de lipide neutre (TG, Acide gras, stérols) est la plus active (19 mm d'inhibition). Après purification, l'activité antibactérienne est diminuée (10 mm) et reste comparable pour les trois types de composés. Ces composés doivent donc agir en synergie. Il semble qu'un mélange fortement enrichi en fucostérol, acide arachidonique, acide  $\Delta^9$  18:1 et d'autres composés (stérols 30:1, acide linoléique et EPA) permettent d'obtenir cette activité antibactérienne (Tableau 10).

### 3.3. Analyse des fractions glycolipidiques chez *Bifurcaria bifurcata*

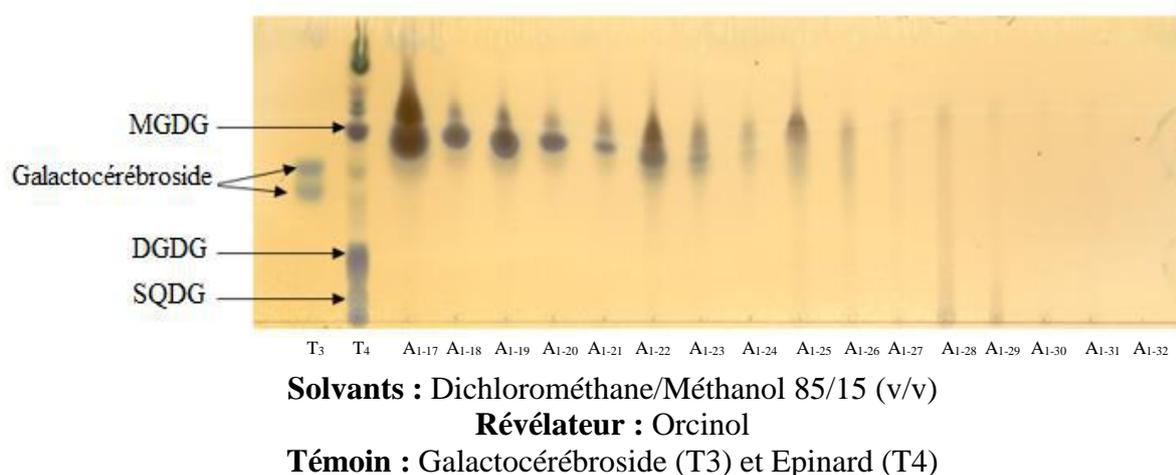
Les glycolipides représentent 36 % des lipides totaux, ce qui est intéressant pour mener une première investigation des fractions glycolipidiques du point de vue de leur potentielle activité antiproliférative sur des cellules cancéreuses.

Ainsi, une analyse par chromatographie sur couche mince comparée aux témoins galactocérobrosides et épinard et aussi des tests biologiques, ont été réalisés pour toutes les fractions acétoniques obtenues par chromatographie d'adsorption sur colonne ouverte.

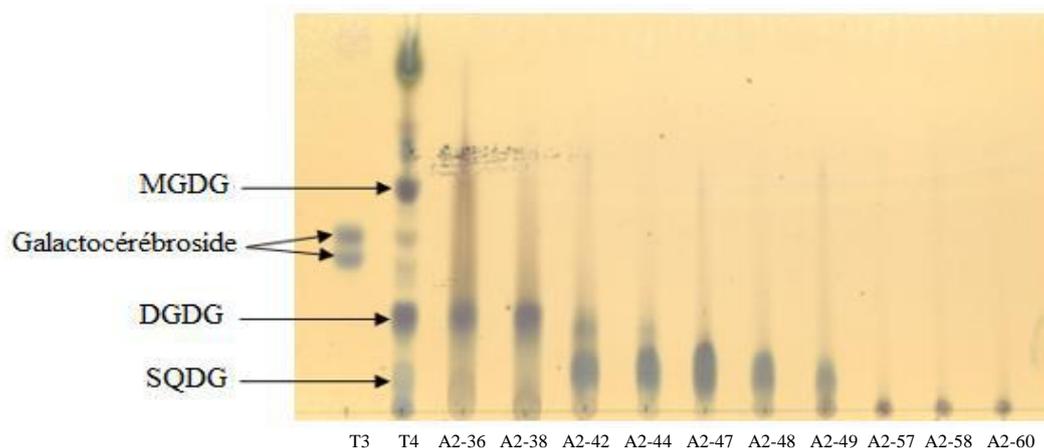
La comparaison avec le témoin constitué d'un extrait d'épinard fabriqué au laboratoire, a permis de repérer les positions des monogalactosyldiacylglycérols (MGDG), des digalactosyldiacylglycérols (DGDG) et des sulfoquinovosyl diacylglycérols (SQDG) par CCM analytique (Fig. 14-15-16). Les résultats de cette analyse ont montré la présence de peu des SQDG et DGDG et beaucoup des MGDG pour les fractions acétoniques.



**Figure 14 :** Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des glycolipides de l'algue *Bifurcaria bifurcata*



**Figure 15 :** Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des glycolipides de l'algue *Bifurcaria bifurcata*



**Solvants :** Dichlorométhane/Méthanol 85/15 (v/v)

**Révélateur :** Orcinol

**Témoin :** Galactocérébroside (T3) et Epinard (T4)

**Figure 16 :** Chromatographie sur couche mince analytique des fractions des glycolipides de l'algue *Bifurcaria bifurcata*

### **3.4. Recherche des fractions responsables de l'activité antiproliférative de *Bifurcaria bifurcata***

L'incapacité de guérir de nombreuses maladies, comme le cancer, a stimulé la nécessité de développer de nouveaux médicaments à partir de sources naturelles. De toutes les sources naturelles, l'environnement marin est clairement la dernière grande frontière pour la recherche pharmaceutique et médicale (Mhadhebi et *al.*, 2012).

Couvrant environ 70 % de la surface planétaire, les océans possèdent un énorme potentiel pour la découverte de nouvelles molécules à activité biologique. Au cours des dernières années, le milieu marin a été reconnu comme une source riche de métabolites bioactifs à la base d'une variété d'activités biologiques et pharmacologiques (Ismail et *al.*, 2008).

Parmi les substances qui reçoivent actuellement la plus grande attention pour la fabrication de médicaments, les fucoidans, un groupe de polysaccharides sulfatés purifiés à partir des algues brunes, possédant une variété d'effets pharmacologiques y compris les propriétés anticancéreuses et anti-inflammatoires (Gupta et Abu-Ghannam, 2011).

La recherche de médicaments anticancéreux depuis les molécules marines ont conduit à des résultats prometteurs dans les essais à différentes phases des maladies cancéreuses (Mayer et Gustafson, 2006). Les macroalgues ont montré de puissantes activités cytotoxiques (Smit, 2004 ; Mayer et Gustafson, 2006) et peuvent être consommées comme agent chimiopréventif contre plusieurs cancers (Yuan et Walsh, 2006).

## PARTIE II : Composition lipidique : activité antiproliférative

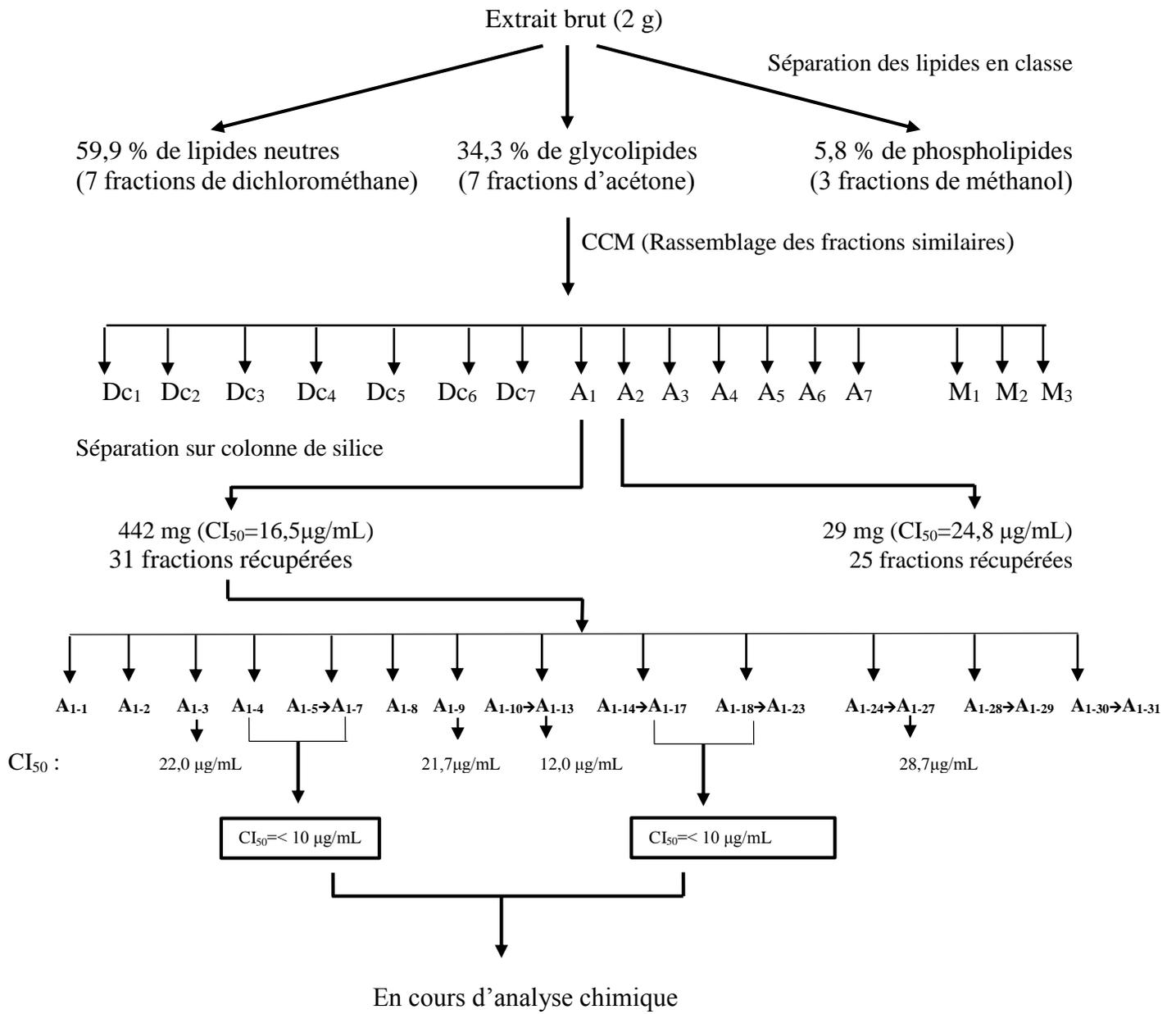
Les fractions acétoniques de *Bifurcaria bifurcata* sont testées pour leur activité antiproliférative sur deux lignées humaines de cancer du poumon NSCLC-N6 et A549. La concentration de l'extrait inhibant 50 % de la croissance cellulaire (CI<sub>50</sub>) a été déterminée par rapport à un témoin cultivé dans les mêmes conditions en l'absence du composé étudié. Ce test a permis de réaliser une sélection des extraits acétoniques présentant une activité susceptible de limiter ou stopper la croissance de ce type de cellules cancéreuses (Tableau 11).

Les fractions A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> (fractions acétonique éluées par 100 % d'acétone) représentent les activités les plus importantes contre les deux lignées cellulaires étudiées. La fraction A<sub>1</sub> avec la meilleure activité est soumise à un 2<sup>ème</sup> fractionnement pour obtenir 31 fractions.

Par la suite, les fractions acétoniques issue de ce 2<sup>ème</sup> fractionnement sont réunies selon leur profil en CCM et testées pour une activité antiproliférative.

Les fractions A<sub>1-14</sub>→A<sub>1-17</sub> et A<sub>1-18</sub>→A<sub>1-23</sub> qui résultent de sous fractionnement de la fraction acétonique A<sub>1</sub> de l'extrait brut de *Bifurcaria bifurcata* sont réunies et soumis à un fractionnement supplémentaire pour purification d'une molécule active sur ce type de lignées (Fig. 17).

**PARTIE II : Composition lipidique : activité antiproliférative**



**Figure 17** : Schéma de fractionnement de l'extrait de l'algue *Bifurcaria bifurcata*

**Tableau 11** : Activités antiprolifératives (CI<sub>50</sub>) des différentes fractions obtenues par séparation des lipides sur colonne pour *Bifurcaria bifurcata*

Fractions obtenues		Activité anticancéreuse	
		Lignée NSCLC-N6	Lignée A549
		CI <sub>50</sub> (µg/mL)	
Lipides neutres	Dc1	_*	_*
	Dc2	_*	_*
	Dc5	_*	_*
	Dc6	_*	_*
Glycolipides	A1	16,5 ± 0,4	23,1 ± 0,3
	A2	24,8 ± 0,4	-
	A3	-	-
	A4	-	-
	A5	-	-
	A1-1	-	-
	A1-2	-	-
	A1-3	26,2 ± 0,2	22,0 ± 2,3
	A1-4	< 10	< 10
	A1-5→A1-7	< 10	11,9 ± 1,6
	A1-8	_*	_*
	A1-9	21,7 ± 0,5	23,0 ± 0,3
	A1-10→A1-13	15,5 ± 0,5	12,0 ± 0,8
	A1-14→A1-17	12,5 ± 0,9	< 10
	A1-18→A1-23	< 10	11,7 ± 0,8
	A1-24→A1-27	28,7 ± 0,1	37,7 ± 1,2
	A1-28→A1-29	-	-
A1-30→A1-31	-	-	
Phospholipides	M1	_*	_*
	M2	_*	_*
	M3	_*	_*

\_\* : Absence d'activité ou non testé

- : Concentration inhibitrice CI<sub>50</sub> > 30 µg/mL ou inactif

Le tableau 11 résume l'ensemble des résultats de test des activités antiprolifératives des fractions obtenues par la séparation des lipides de *Bifurcaria bifurcata*.

L'activité antiproliférative des fractions A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub> (fractions acétoniques éluées par 100 % d'acétone) est active sur la lignée NSCLC-N6 (16,5 µg/mL et 24,8 µg/mL respectivement) et la fraction A<sub>1</sub> sur la lignée A549 avec une CI<sub>50</sub> de 23,1 µg/mL. Les fractions A<sub>1-4</sub>, A<sub>1-5</sub>→A<sub>1-7</sub>, A<sub>1-14</sub>→A<sub>1-17</sub> et A<sub>1-18</sub>→A<sub>1-24</sub> issues d'un deuxième fractionnement de la fraction A<sub>1</sub> présentent une concentration inhibitrice d'environ 12 µg/mL ou <10 µg/mL contre les lignées A549 et NSCLC-N6. Les composés impliqués dans cette activité ont un R<sub>f</sub> (Référence frontale) légèrement inférieur à celui des MGDG de l'extrait d'épinard.

Dans la littérature, le Dehydrothysiferol et le halomon extrait de *Laurencia viridis* sp. nov. (Pec et al., 2003) et *Portieria hornemanii* (Egorin et al., 1997), ont été testés dans la phase préclinique. Les polysaccharides et les terpénoïdes des algues brunes (Kwon et Nam, 2007) sont considérés comme des molécules bioactives prometteuses dans la recherche de médicaments anticancéreux.

Des extraits bruts de lipides provenant d'algues rouges notamment de *Palmaria palmata*, *Laurencia popillose*, *Galaxoura cylindria* ou encore *Chondrus crispus* ont montré une importante activité anticancéreuse (El Baz et al., 2014).

Les résultats obtenus laissent penser à un effet antiprolifératif important de l'extrait lipidique de *Bifurcaria bifurcata*. Ceci peut concorder avec les travaux de Kotaké et al. (2001) qui ont montré que la fucoxanthine qui est un caroténoïde extrait des algues brunes a un important pouvoir anti-prolifératif sur une lignée de cellules prostatiques cancéreuses de l'Homme. De même, l'équipe de Ayyad et al. (2001, 2003) a pu extraire de deux algues brunes *Sargassium crispum* et *Cystoseira myrica*, un mérodi-terpène qui possède un pouvoir cytotoxique. Ce composé a été aussi retrouvé chez l'algue brune *Cystoseira baccata* par l'équipe de Mokriani et al. (2008). Mais surtout, ceci confirme avec une activité antiproliférative plus importante un résultat déjà trouvé au laboratoire : les MGDG de *Soliera chordalis* ont montré une CI<sub>50</sub> = 23,5 ± 1,3 µg/mL sur la lignée NSCLC-N6.

### III. Conclusion

Une analyse des lipides totaux de 24 espèces d'algues a été réalisée afin de rechercher de nouveaux composés de nature lipidique potentiellement anticancéreux. Six algues les plus abondantes et non exploitées à ce jour (*Bifurcaria bifurcata*, *Ellisolandia elongata*, *Plocamium cartilagineum*, *Gracilaria cervicornis*, *Halopitys incurvus* et *Laminaria digitata*) ont été choisies pour une étude plus approfondie. Par la suite, notre choix s'est porté sur l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* pour l'évaluation de l'activité antiproliférative vue son abondance très élevée sur notre côte.

La composition en acide gras des lipides totaux des six algues étudiées a confirmé des compositions classiques sauf pour deux d'entre elles qui ont un taux d'acide gras polyinsaturés particulièrement bas : *Gracilaria cervicornis* (environ 20 %) et *Laminaria digitata* (10 %). L'algue possédant le meilleur rapport d'acide gras polyinsaturés / acides gras saturés est l'algue brune *Bifurcaria bifurcata*. Les acides gras polyinsaturés majoritaires sont l'acide arachidonique, l'acide linoléique et l'EPA. Pour la composition stérolique, nous retrouvons à plus de 90 % le fucostérol.

L'extrait lipidique de *Bifurcaria bifurcata* (4,4 % de lipide) a été fractionné. L'analyse des lipides a montré que cette algue est riche en lipides neutres (59,9 %) par rapport aux glycolipides (34,3 %) et phospholipides (5,8 %). Une fraction de lipide neutre enrichie en fucostérol, acide arachidonique, acide  $\Delta^9$  18:1 et d'autres composés (stérols 30:1, acide linoléique et EPA) permettent d'obtenir une activité antibactérienne contre *Dickeya dadantii* (19 mm d'inhibition).

Quant à l'analyse des fractions glycolipides, la fraction A<sub>1</sub> a montré une présence majoritaire de MGDG. La fraction A<sub>1-14</sub>→A<sub>1-17</sub>, provenant d'une purification de cette fraction A<sub>1</sub> (contenant des MGDG) possède une activité antiproliférative contre les cellules humaines du cancer du poumon (NSCLC-N6 et A549) avec une CI<sub>50</sub> < 10 µg/mL.

# **Partie III :**

**Etude de la possibilité d'utilisation  
des extraits d'algues marines en tant  
que bio pesticides**

-

**Cas de la pourriture molle de la  
pomme de terre**

La nécessité de mettre en place un système agricole en tenant compte du développement durable, a favorisé de nombreuses initiatives visant à développer des méthodes alternatives afin de réduire l'utilisation de pesticides chimiques de synthèse. Parmi ces alternatives, l'utilisation d'agents de lutte biologique ou bio-pesticides a suscité un intérêt croissant en raison de leurs avantages écologiques. La stimulation des défenses naturelles des plantes est considérée comme l'une des stratégies alternatives la plus prometteuse pour la protection des cultures (Walters et Fountaine, 2009). Cette approche biologique d'origine naturelle n'exerce pas d'effets directs sur l'agent pathogène (Kuc, 2006 ; Walters et Fountaine, 2009), mais stimule les défenses naturelles des plantes, conduisant à une résistance systémique acquise (Vallad et Goodman, 2004). En phytopathologie les algues marines représentent une grande source de produits naturels complexes. Ces derniers représentaient une source prometteuse de nouveaux composés bioactifs qui peuvent aider à la survie des plantes en offrant une protection contre le stress imposé par les agents pathogènes. Les algues peuvent avoir également d'autres applications dans l'agriculture (Delattre et *al.*, 2005).

Les extraits des macroalgues ont été largement utilisés dans l'agriculture côtière comme conditionneurs de sol pour améliorer la productivité des cultures (Booth, 1969), en agissant sur l'influence de la respiration, la photosynthèse, la synthèse de l'acide nucléique et l'absorption d'ions (Khan et *al.*, 2009 ; Craigie, 2011). Par conséquent, ces produits peuvent améliorer la disponibilité des nutriments, la capacité de rétention d'eau, augmenter les antioxydants, améliorer le métabolisme, accroître la production de chlorophylle (Khan et *al.*, 2009) et la gestion des stress biotiques et abiotiques dans les plantes cultivées.

Cette partie est consacrée à l'évaluation de l'activité antibactérienne de 24 espèces d'algues marines dans le but de sélectionner *in vitro* l'extrait d'algues actif contre la pourriture molle de la pomme de terre. Par la suite, six algues (*Bifurcaria bifurcata*, *Laminaria digitata*, *Halopityis incurvus*, *Ellisolandia elongata*, *Plocamium cartilagineum* et *Gracilaria cervicornis*) les plus actives sont choisies pour l'évaluation de l'activité antibactérienne *in vivo*.

Le choix de ces six espèces (*Bifurcaria bifurcata*, *Laminaria digitata*, *Halopityis incurvus*, *Ellisolandia elongata*, *Plocamium cartilagineum*, et *Gracilaria cervicornis*) est basé sur le fait que la flore algale de la ville d'El Jadida présente une richesse très importante et non ou peu exploitées, en particulier le Fucus et les Laminaires qui constituent une ceinture presque continue le long de la côte de la région d'étude. Le Sargassum très abondant couvre les cuvettes de la limite inférieure de médiolittoral et la partie supérieure de l'infralittoral.

## I. Matériel et Méthodes

### 1. Récolte du matériel algal

Les 24 espèces d'algues étudiées dans cette partie sont les même que dans la première partie et sont :

- **Algues vertes** : *Codium elongatum*, *Ulva rigida*, *Enteromorpha intestinalis*
- **Algues brunes** : *Bifurcaria bifurcata*, *Fucus spiralis*, *Laminaria digitata*, *Sargassum vulgare*, *Cystoseira tamariscifolia*, *Cystoseira humilis*, *Halopitys incurvus*,
- **Algues rouges** : *Ellisolandia elongata*, *Osmundea pinnatifida*, *Gracilaria cervicornis*, *Gymnogongrus crenulatus*, *Gelidium corneum*, *Gelidium pulchellum*, *Plocamium cartilagineum*, *Gigartina acicularis*, *Hypnea musciformis*, *Corallina officinalis*, *Asparagopsis armata*, *Rhodomenia pseudopalmata*, *Gigartina teedii*, *Gracilaria multipartita*.

### 2. Préparation des extraits d'algues

#### 2.1. Extraction organique

Pour chaque espèce, une poudre a été préparée par broyage est soumise à quatre types d'extractions par trois solvants organiques de polarité différente : par le dichlorométhane, le méthanol et le mélange dichlorométhane-méthanol (50:50) à raison de 1 g de poudre pour 5 mL de solvant selon le protocole d'extraction décrit par Caccamese et Azolina (1979).

Le mélange obtenu est soumis ensuite à une agitation continue (agitateur orbitale, 200 tr/min) à l'abri de la lumière pendant 72 heures à température ambiante, puis filtré sur papier Wattman N°1. Après filtration, le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif et les extraits obtenus sont conservés dans des flacons fermés dans un endroit sec à l'obscurité pour être testés ultérieurement.

#### 2.2. Extraction aqueuse

En parallèle, un extrait aqueux a été préparé pour les différentes algues afin de rechercher les molécules solubles dans l'eau. La préparation des extraits a été effectuée selon la méthode d'extraction de Kumar et Sahoo (2011) avec quelques modifications selon les étapes suivantes :

A partir de la poudre d'algue plusieurs concentrations (4 g/L 8 g/L, et 16 g/L) ont été préparées et mélangées avec de l'eau distillée chaude (100 °C) sous agitation pendant 1 heure puis conservées à 4 °C pendant 24 heures. Le surnageant récupéré est filtré puis centrifugé à 3000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 30 min, le filtrat obtenu est immédiatement conservé à -20 °C ou bien lyophilisé et conservé à l'abri de la lumière.

### **3. Recherche de l'activité antibactérienne**

Dans le but d'évaluer l'activité antibactérienne et d'identifier les composés contenus dans les extraits d'algues responsables de l'action contre la pourriture molle de la pomme de terre, une étude *in vitro* a été mise en place.

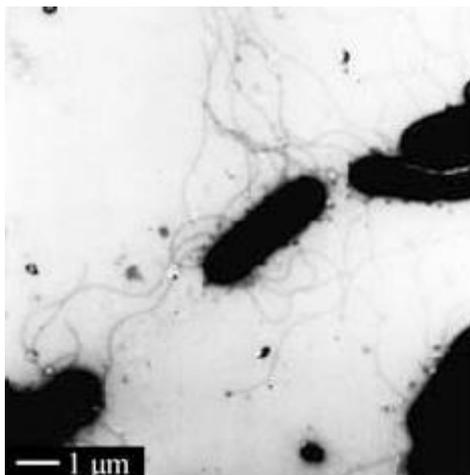
L'activité antibactérienne a été recherchée dans les trois extraits organiques et dans l'extrait aqueux.

#### **3.1. Isolement et identification de la souche bactérienne utilisée**

L'isolat provient de fragments des plantes de pomme de terre présentant des symptômes de pourriture molle causée par *Erwinia* sp. L'identification de l'agent pathogène consiste à la réalisation d'une série des tests pour confirmer les caractéristiques décrites dans l'annexe 4. Les colonies suspectes sont identifiées au moyen de différents tests, cette identification est confirmée par le test du pouvoir pathogène sur jeune feuille de tabac et sur des tranches de tubercule de pomme de terre. Cette souche a été identifiée comme étant *Dickeya dadantii*. En parallèle, ce travail est réalisé sur une souche de référence *Pectobacterium brasiliensis* 1347 (*Erwinia carotovora*).

##### **3.1.1. *Dickeya dadantii***

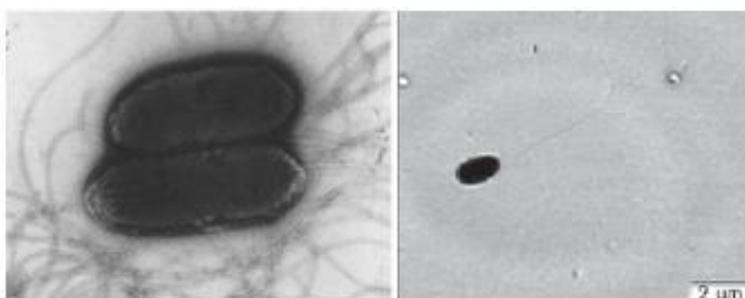
*Dickeya dadantii* ou *Erwinia chrysanthemi*, est une bactérie phytopathogène provoquant la maladie de la pourriture molle. C'est un bacille gram-négatif qui appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Les membres de cette famille sont des anaérobies facultatifs, capables de fermenter les sucres en acide lactique, ont la nitrate réductase, mais ils manquent d'oxydases. *Dickeya dadantii* est une bactérie en forme de tige droite à extrémités arrondies. De taille de 0,8 à 3,2 µm x 0,5 à 0,8 µm et sont entourées de nombreux flagelles (Fig. 18).



**Figure 18 :** Microscopie électronique de *Dickeya dadantii* (Joko et al., 2007).

### 3.1.2. *Pectobacterium brasiliensis* 1347 (*Erwinia carotovora*)

*Pectobacterium brasiliensis* (*Pectobacterium carotovorum* ou *Erwinia carotovora*) est une bactérie gram-négative anaérobie facultative, en forme de tige et non sporulante. Les bactéries sont typiquement des tiges de 0,5 à 1,0 μm x 1,0 à 3,0 μm et mobiles avec des flagelles. *Pectobacterium carotovorum* provoque des maladies de la pourriture molle dans de nombreuses cultures et plantes ornementales, allant des carottes et des pommes de terre aux riz. Elle provoque notamment la nécrose vasculaire de la betterave et de la pomme de terre. Ce pathogène provoque ainsi des problèmes post-récolte chez de nombreux fruits et légumes (Fig. 19).



**Figure 19 :** Microscopie électronique à transmission de *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*) (Mukherjee et al., 1996 ; Dong et al., 2013)

### 3.2. Test de l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits organiques est celle de la diffusion en milieu gélosé, en utilisant des disques de cellulose de 6 mm de diamètre, selon la technique décrite par Bauer et al. (1966).

### **PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre**

L'extrait est dissout dans un volume minimal de solvant, puis déposé sur une pastille de cellulose, après évaporation du solvant, la pastille est placée à la surface d'une boîte de pétri préalablementensemencée par inondation. Pour cela, une colonie représentative, prélevée pour la réalisation du test antibactérien ( $10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup> en utilisant les cellules de Malassez) est mise en suspension dans 10 mL d'eau physiologique stérile. Après agitation, 5 mL de la suspension serviront à l'inondation d'une boîte de pétri contenant la gélose de Muller Hinton (Annexe 1), après quelques minutes, l'inoculum est aspiré.

L'activité antibactérienne est ensuite quantifiée dans les extraits algaux, pour cela, une quantité de 500 µg de l'extrait à analyser (solubilisé dans 20 µL de dichlorométhane/méthanol) est déposée sur la pastille. Après évaporation du solvant, ces pastilles sont ensuite appliquées directement dans des boîtes de pétri préalablementensemencées par la souche test concernée.

Des pastilles imprégnées d'antibiotique standards, la streptomycine (5 µg) et de solvant seul sont utilisées comme témoins. Après incubation à 26 °C pendant 18 à 24 heures, l'activité antibactérienne est évaluée en mesurant le diamètre d'inhibition en mm.

Pour l'extrait aqueux, on utilise la méthode des puits. Pour cela, un volume de 10 µL des extraits obtenus est déposé dans des puits réalisés dans la gélose contenant la souche test appropriée. La zone d'inhibition est observée après une période d'incubation de 24 heures à 26 °C et correspond à l'apparition d'une tâche transparente au niveau de la zone où il y a une activité inhibitrice de la croissance bactérienne.

#### **4. Effet des extraits d'algues sur la culture de la pomme de terre**

Pour déterminer l'effet des extraits d'algues sur l'agressivité de *Dickeya dadantii*, un essai *in vivo* est mis en place. Dans un premier temps, l'observation se fait de façon directe en évaluant l'efficacité des extraits appliqués sur une plante infectée par *Dickeya dadantii* (par observations visuelles des symptômes provoqués par la bactérie, Annexe 5). Ensuite, c'est la résistance induite chez les plantes de pomme de terre élicitées par les extraits d'algues, qui est évaluée.

##### **4.1. Variété de la pomme de terre utilisée**

La variété de pomme de terre «**Désirée**» utilisée dans cette étude est celle qui est la plus cultivée et la plus adoptée par les agriculteurs, en plus de sa sensibilité vis-à-vis de *Dickeya dadantii*. Les tubercules proviennent d'une culture de saison effectuée au domaine agricole de la région d'El Jadida.

#### **4.2. Préparation de la suspension bactérienne pour l'inoculation des plantes**

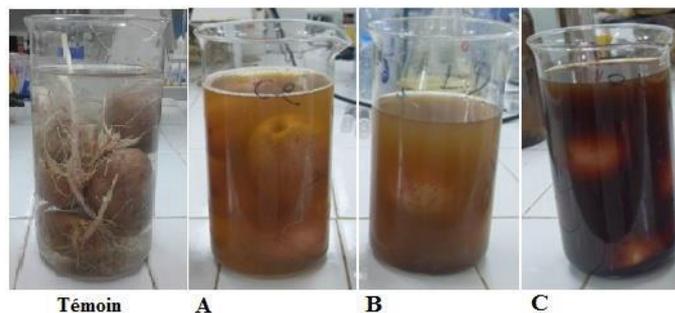
La multiplication de *Dickeya dadantii* a été effectuée dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive comme milieu de culture. Ces boîtes sont incubées à 26 °C pendant 3 jours.

La suspension bactérienne a été préparée à partir de culture jeune (24-48 heures) de *Dickeya dadantii*, diluée dans 50 mL d'eau distillée stérile. Ensuite, la concentration a été déterminée par observation au microscope en utilisant une cellule de Malassez et ajustée par dilution à la concentration de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>.

#### **4.3. Traitement de la culture de pomme de terre par les extraits de différentes algues**

Les tubercules de pomme de terre de la variété «**Désirée**» présentant des bourgeons de 5 cm, sont soumises à une désinfection superficielle à l'hypochlorite de sodium dilué à 10 % pendant 30 minutes. Ensuite elles sont abondamment rincées par de l'eau distillée stérile afin d'éliminer les traces d'hypochlorite de sodium puis séchées à l'air ambiant dans des conditions stériles.

Les tubercules sont immergés dans une solution d'extrait aqueux d'algues à différentes concentrations (4 g/L, 8 g/L et 16 g/L) pendant 24 heures (Fig. 20), puis sont séchés sur des plaques à alvéoles dans des conditions stériles avant d'être mises en culture dans des bacs contenant un sol stérile. Les tubercules du lot témoin sont immergés dans de l'eau distillée stérile (Fig. 20).



**Figure 20** : Photographies des tubercules de pomme de terre trempées dans différentes concentrations d'extrait aqueux d'algues

**Témoin** : Tubercules de pomme de terre émergées dans de l'eau distillée

**A** : Tubercules de pomme de terre émergées dans l'extrait aqueux d'algue à 4 g/L

**B** : Tubercules de pomme de terre émergées dans l'extrait aqueux d'algue à 8 g/L

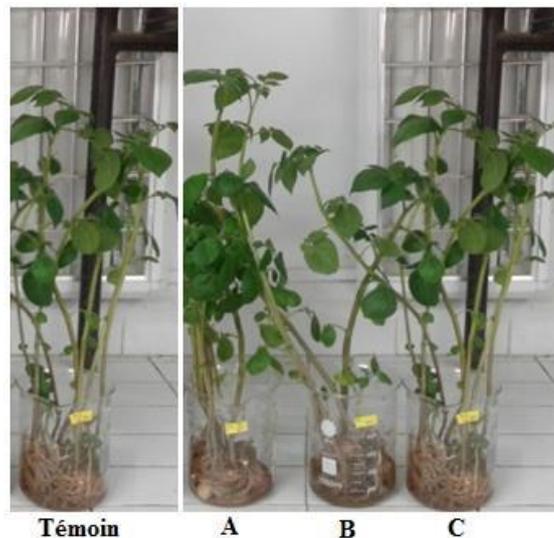
**C** : Tubercules de pomme de terre émergées dans l'extrait aqueux d'algue à 16 g/L

### PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre

Des plantes saines de pomme de terre âgées de un mois avec une taille uniforme, sont pulvérisées par des solutions d'extraits d'algues à différentes concentrations, une deuxième pulvérisation est réalisée après 3 jours.

Après 7 jours, les plantes sont inoculées par immersion des racines dans une solution bactérienne de *Dickeya dadantii* avec une concentration de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> pendant 24 heures. Les racines sont préalablement lavées avec de l'eau distillée pour enlever la saleté de surface, le tubercule mère est blessé à l'aide d'un scalpel pour favoriser la pénétration de l'agent pathogène. Une fois inoculées, les plantes sont transplantées dans le substrat préparé (sol stérile).

Les plantes du lot témoin négatif sont traitées de la même manière et transplantées dans un substrat préalablement stérilisé. Le lot des plantes témoins positif sont trempées dans une solution d'un pesticide de référence (Systemil 72WP INDOFIL industries limited N° de lot : MTX-016, 300 g PC/hl), chaque traitement est constitué de cinq répétitions de plantes (Fig. 21).



**Figure 21** : Photographies de trempage des racines des plantes de pomme de terre dans une solution bactérienne de *Dickeya dadantii*

- Témoin** : Plantes de pomme de terre non traitées par les extraits d'algues  
**A** : Plantes de pomme de terre prétraitées par 4 g/L d'extrait aqueux d'algue  
**B** : Plantes de pomme de terre prétraitées par 8 g/L d'extrait aqueux d'algue  
**C** : Plantes de pomme de terre prétraitées par 16 g/L d'extrait aqueux d'algue

L'évaluation des symptômes est effectuée 4 jours après la transplantation des plantes avec un intervalle de 3 jours et ceci pendant 4 semaines. L'évaluation de l'efficacité des produits

appliqués est réalisée en déterminant le niveau d'infection des plantes qui est basé sur des observations visuelles en se référant aux symptômes provoqués par *Dickeya dadantii*.

#### **4.4. Evaluation de la résistance induite chez la pomme de terre élicitée par les extraits d'algues contre la pourriture molle**

L'infection d'une plante par un agent pathogène s'accompagne généralement de modifications histologiques et biochimiques, pouvant induire localement un état de résistance par la production des substances activant la défense naturelle chez les plantes.

Certains mécanismes de défense des plantes sont constitutifs, alors que d'autres sont induits lors de la reconnaissance de la plante d'un micro-organisme ou l'un de ses composants. Ces phénomènes de reconnaissance vont alors enclencher la production de signaux et de messagers chimiques chez les végétaux, qui à leur tour régulent les modifications de l'expression des gènes de résistance.

Parmi ces derniers, on peut citer ceux qui sont impliqués dans la biosynthèse de petites molécules à activité antibiotique ou de composés allant renforcer la paroi pecto-cellulosique ainsi que tout un ensemble de gènes codant pour des protéines très résistantes, les protéines PR (pathogenesis-related), présentent de fortes activités antimicrobiennes directes et/ou indirectes.

Les recherches actuelles visent à identifier des signaux ou des substances activant tous ou une partie de ces éléments de défense naturelle, ce qui permet d'envisager de nouvelles stratégies phytosanitaires plus respectueuses de l'environnement.

La connaissance de l'évolution des teneurs des éléments minéraux et des signaux et messagers chimiques chez la plante est d'une grande importance. Elle permet d'évaluer l'apport des extraits d'algues en éléments minéraux d'une part et d'apprécier l'absorption de ces éléments par la plante d'autre part, favorisant ainsi la croissance et la stimulation de la défense de la plante.

##### **4.4.1. Effet des extraits d'algues sur la croissance des plantes de pomme de terre**

Dans le but de caractériser l'effet des extraits d'algues sur la croissance des plantes de pomme de terre, nous avons retenu différents critères qui sont optimisés au niveau du laboratoire.

#### **4.4.1.1. Morphologiques**

La croissance des plantes prétraitées par les différents extraits d'algues a été évaluée par la mesure de la longueur des plantes, le nombre des branches, le diamètre des feuilles, le nombre des feuilles et le nombre des nœuds.

#### **4.4.1.2. Dosage de l'azote total**

L'azote est un élément particulièrement complexe à cause des différentes formes chimiques sous lesquelles il peut exister, il peut être oxydé ou réduit et être sous des formes extrêmement stables ou instables. L'azote organique n'est pas utilisé directement par la plante, il est converti en formes inorganiques facilement absorbées par la plante.

La teneur en azote est déterminée par la méthode de Kjeldhal (1883) qui consiste à une minéralisation de la matière organique à chaud par de l'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) en présence de catalyseurs : le sulfate de cuivre (CuSO<sub>4</sub>) et le sulfate de potassium (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Par la suite le minéralisât est distillé en présence d'eau distillée et de soude caustique (NaOH 50 %), la vapeur récupérée est titrée avec de l'acide chlorhydrique (HCl 0,1N) dans un bêcher contenant de l'acide borique à 4 % (m/m) additionné de quelques gouttes de l'indicateur de TASHIRO.

Le pourcentage de la matière azotée totale est calculé selon la formule :

$$\text{MAT}(\%) = \frac{(\text{Ve}-\text{Vb}) * 0,1 * 14}{(\text{P1} * \% \text{MSa})} * 100$$

**Ve** : Volume de l' HCl 0,1 N ajouté

**Vb** : Volume du blanc

**P1** : Poids d'échantillon (prise d'essai)

#### **4.4.1.3. Dosage du nitrate**

La méthode utilisée consiste en une solubilisation des nitrates à partir de la poudre végétale obtenue en séchant l'échantillon à l'étuve à 70 °C pendant 48 heures. 100 mg de poudre sont mis dans une fiole avec 20 mL d'eau distillée, fermée et portée au bain-marie à 45 °C pendant 1 heure. Après centrifugation pendant 15 minutes à 13 000 tours.min<sup>-1</sup>, le surnageant obtenu est utilisé pour le dosage des nitrates selon la méthode de Rodier (1998).

### **PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre**

Pour cela, 10 mL de solution de  $\text{NO}_3^-$  ou de surnagent sont ajoutés à 0,5 mL d'azoture de sodium et 0,2 mL d'acide acétique. Après 5 minutes, le mélange est évaporé à sec au bain-marie ou dans une étuve à 75-80 °C. 1 mL de la solution de salicylate de sodium est ajouté à la préparation, mélangé puis évaporé. Après refroidissement, le résidu est repris par 1 mL d'acide sulfurique concentré. Après 10 minutes, 15 mL d'eau déionisée et 10 mL de solution d'hydroxyde de sodium sont ajoutés. La lecture de la DO est effectuée au spectrophotomètre à 415 nm.

Les concentrations en nitrates sont calculées à partir d'une gamme d'étalonnage réalisée à l'aide d'une solution mère de  $\text{KNO}_3$  à 100  $\text{mg.L}^{-1}$ .

#### **4.4.1.4. Dosage du phosphore**

Le phosphore joue un rôle physiologique à plusieurs niveaux. Son action étant conjuguée à celle de l'azote, il favorise la croissance de la plante, le développement des racines, la précocité, la qualité des produits, la rigidité des tissus et la reproduction. Un apport convenable en phosphore permet un développement harmonieux des plantes.

Le dosage du phosphore a été effectué selon la méthode colorimétrique où l'échantillon à analyser est séché dans l'étuve à 70 °C pendant 48 à 72 heures puis broyé. 0,5 g de matière sèche est mise dans une capsule en porcelaine puis placée dans un four à moufle dont la température est augmentée progressivement pour atteindre 500 °C pendant 4 à 5 heures. Après refroidissement, les cendres récupérées sont soumises à une attaque acide par l'acide chlorhydrique. Par la suite les échantillons préparés sont soumis à une analyse colorimétrique (Diddier de saint-Amand et Cas, 1967).

#### **4.4.1.5. Dosage des sucres**

Le dosage des sucres a été réalisé selon la méthode de Dubois et *al.* (1956) qui consiste à mettre dans un tube à hémolyse de 5 mL, 200  $\mu\text{L}$  de l'échantillon à doser avec 200  $\mu\text{L}$  de solution de Phénol à 5 %. Ensuite 1 mL d'acide sulfurique à 97 % est ajouté. Après 30 min à température ambiante, la lecture de la densité optique se fait à une longueur d'onde de 490 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Camspec M106.

#### **4.4.1.6. Dosage des pigments**

Les concentrations en chlorophylles a et b sont déterminées selon le protocole de Ferus et Arkosiova (2001), qui consiste en une macération du végétal dans l'acétone, pour cela 0,5 g de limbe foliaire est découpé en petits morceaux puis broyé dans un mortier avec 25 mL d'acétone à 80 %. Après broyage total, la solution est filtrée et mise dans des boîtes noires pour éviter l'oxydation de la chlorophylle par la lumière. La densité optique de cette solution est mesurée dans une cuve de spectrophotomètre à 645 et à 663 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Camspec M106 après étalonnage de l'appareil avec la solution témoin de l'acétone à 80 %.

Les valeurs de la chlorophylle sont déduites selon les formules décrites par Ferus et Arkosiova (2001) :

$$\text{Chlorophylle a (mg.L}^{-1}\text{)} = 12,7 \text{ DO}_{663} - 2,69 \text{ DO}_{645}$$

$$\text{Chlorophylle b (mg.L}^{-1}\text{)} = 22,9 \text{ DO}_{645} - 4,68 \text{ DO}_{663}$$

$$\text{Chlorophylle total (mg.L}^{-1}\text{)} = 8,02 \text{ DO}_{663} + 20,20 \text{ DO}_{645}$$

#### **4.4.2. Effet des extraits d'algues sur l'activation des enzymes de défense chez les plantes de pomme de terre**

Dans le but d'évaluer l'effet des six extraits d'algues à différentes concentrations sur le système de défense des plantes, différents paramètres biochimiques sont dosés chez les différentes plantes prétraitées.

##### **4.4.2.1. Evaluation du stress oxydatif par dosage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Le dosage du peroxyde d'hydrogène est effectué selon la méthode de Sergiev et *al.* (1997). Pour cela, 0,2 g du matériel végétal (feuilles) est broyé dans 3 mL d'acide trichloracétique à 0,1 %. Le broyat a été récupéré et centrifugé à 5000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 15 minutes. 0,5 mL d'extrait obtenu est ajouté à 0,5 mL du tampon phosphate de potassium (10 mM ; pH 7) et 1 mL d'iodure de potassium (1M). L'absorbance du surnageant est déterminée à 390 nm. La teneur en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, est exprimée en µmol.g<sup>-1</sup> de poids frais, elle est déduite d'une courbe standard.

**4.4.2.2. Dosage de l'activité enzymatique de la peroxydase (POX)**

Le dosage de la peroxydase est effectué selon la méthode de Bacon *et al.* (1997). Les échantillons de matériel végétal (0,2 g ; feuilles) sont homogénéisés dans un mortier avec 4 mL d'une solution de polyvinylpyrrolidone (PVP). Après centrifugation à 5000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 15 min, le surnageant récupéré forme l'extrait brut sur lequel sont effectués les dosages des activités enzymatiques POX ainsi que les teneurs en protéines.

L'oxydation du gaïacol est mesurée en suivant l'évolution de la variation de la DO à 470 nm pendant 4 min. Le mélange réactionnel comporte 50-100 µL de l'extrait enzymatique, 1,8 mL de solution de gaïacol (320 µL de gaïacol par 100 mL de la solution d'acétate de sodium 0,1 N pH 5,5) et 200 µL de peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. L'activité du gaïacol peroxydase est exprimée en activité spécifique (en unités d'enzymes par mg de protéines).

**4.4.2.3. Extraction et dosage des polyphénol-oxydases (PPO)**

L'étude de l'activité des polyphénol-oxydases (PPO) des feuilles des plantes de pomme de terre inoculées et/ou prétraitées par les extraits d'algues étudiés a été dosée le long de la période de l'expérimentation.

L'extraction et le dosage ont été faits selon la méthode décrite par Masia *et al.* (1998) avec quelques modifications et exprimé en ΔDO par minute par milligramme de protéine.

Les feuilles inoculées et/ou prétraitées par différentes concentrations d'extraits d'algues ont été utilisées pour l'étude. Pour chaque traitement 0,2 g de limbe foliaire frais a été broyé dans un mortier contenant 2 mL d'une solution de polyvinylpyrrolidone (PVP). Après centrifugation à 13000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 15 min à 8 °C, le surnageant récupéré a constitué l'extrait brut enzymatique. L'activité polyphénol-oxydases a été déterminée pour chaque échantillon.

Le dosage de l'activité enzymatique s'est effectué par l'addition de 100 µL de l'extrait enzymatique à : 2,9 mL du mélange réactionnel contenant : 2,8 mL de tampon phosphate pH 7,5 et 100 µL d'une solution de pyrogallol. L'absorbance a ensuite été lue à 420 nm contre le mélange réactionnel sous forme d'un blanc.

**4.4.2.4. Dosage des protéines**

Les protéines solubles sont dosées par la méthode de Bradford (Bradford, 1976). Ce dosage est basé sur l'adsorption du colorant bleu de Coomassie G250. Ce réactif, rouge/brun à

l'état libre, prend une teinte bleue quand il est lié aux protéines et par conséquent possède un coefficient d'extinction molaire élevé dans le visible à 595 nm qui permet un dosage protéique très sensible.

Les échantillons à doser sont mis en suspension (échantillons de feuilles lyophilisées) dans des tubes Eppendorf puis centrifugés à 10 000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 10 min de façon à faire précipiter les éléments insolubles. Les surnageants sont ensuite dilués au 1/200 de façon à entrer dans la gamme. 500 µL de chaque solution ont été prélevés en triplicata et sont introduits dans des eppendorfs, puis 500 µL de réactif de Bradford (Annexe 3, Sigma, France) ont été rajoutés dans chaque tube. Le mélange est vortexé et laissé reposer 5 min à température ambiante. La densité optique à 595 nm des solutions est lue à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc (sans BSA, Annexe 3). La concentration en protéines d'un échantillon est déduite à partir d'une courbe étalon réalisée avec de serum albumin bovine. Les résultats sont exprimés en g de protéine eq BSA/g de matière sèche.

#### **4.4.2.5. Extraction et dosage des composés phénoliques totaux (CPT)**

L'extraction des composés phénoliques est faite selon la méthode décrite par Darne et Madero-Tamargo (1979). Cette méthode est basée sur la solubilité des composés polaires dans une solution hydro-alcoolique et des composés apolaires dans le chloroforme. Pour cela : 0,5 g de matériel végétal (feuilles) est broyé dans un mélange de chloroforme/éthanol/eau en raison de 2/1/1 en volume pendant 4 min. Après broyage le mélange obtenu est centrifugé à 5000 tours.min<sup>-1</sup> pendant 10 min, trois phases apparaissent :

- La phase inférieure chloroformique, colorée en vert, renferme les lipides et les pigments (chlorophylles et caroténoïdes)
- La phase intermédiaire est constituée par les débris végétaux
- La phase supérieure hydro-alcoolique, colorée en brun, contient les produits hydrosolubles : glucides, composés phénoliques et acides aminés.

Les deux phases liquides sont prélevées séparément, la poudre qui reste dans le tube est soumise à de nouvelles extractions effectuées selon le même protocole jusqu'à ce qu'elle soit complètement épuisée de ses composées phénoliques. La totalité de l'éthanol de la phase hydro-alcoolique contenant les composées phénoliques est évaporée sous pression réduite. La phase aqueuse est récupérée et son volume est ajusté à 25 mL.

**a. Dosage des phénols**

Ce dosage repose sur la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphorique et d'acide phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés.

Dans des tubes à hémolyse, 100  $\mu\text{L}$  d'extrait sont ajoutés à 1 mL d'eau distillée et à 200  $\mu\text{L}$  de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 20 %), après 3 min on ajoute 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu. Après homogénéisation, les tubes sont placés à 40 °C pendant 30 min. L'absorbance est déterminée par spectrophotométrie à 725 nm. La concentration en composés phénoliques totaux d'un échantillon est déduite à partir d'une courbe étalon réalisée avec de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en équivalent mg d'acide gallique.g<sup>-1</sup> de matériel végétal sec.

**b. Dosage des tanins**

Les tanins sont déterminés par la méthode de la vanilline dans le milieu acide décrite par Ba et *al.* (2010).

Le réactif à la vanilline est préparé en mélangeant des volumes égaux de : l'acide chlorhydrique (HCl 8 %, v/v), du méthanol 37 % (v/v) et de vanilline (4 % dans du méthanol). Le mélange a été maintenu à 30 °C avant le dosage. 200  $\mu\text{L}$  de chaque extrait à analyser ont été ajoutés à 1000  $\mu\text{L}$  de réactif à la vanilline. Le mélange est ensuite incubé à l'obscurité à 30 °C pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm par un spectrophotomètre contre un blanc constitué d'un mélange de même volume de méthanol (37 %) et du l'acide chlorhydrique (HCl, 8 %). Les résultats sont exprimés en équivalent mg d'acide tannique.g<sup>-1</sup> de matériel végétal sec en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide tannique.

**c. Dosage des Flavonoïdes**

La détermination des flavonoïdes totaux a été réalisée selon la méthode décrite par Dehpour et *al.* (2009).

500  $\mu\text{L}$  de chaque extrait à analyser sont ajoutés à 1,5 mL de méthanol à 95 %, 100  $\mu\text{L}$  de chlorure d'aluminium 10 % (p/v), 100  $\mu\text{L}$  d'acétate de sodium 1M et 2,8 mL d'eau distillée.

Après agitation le mélange est ensuite incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. Le blanc est préparé en remplaçant l'extrait par du méthanol à 95 %.

L'absorbance est mesurée à 415 nm. Les résultats sont exprimés en équivalent quercétine mg.g<sup>-1</sup> de matériel végétal sec en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

## **II. Résultats et Discussion**

Les extraits de macroalgues ont été largement utilisés en agriculture côtière comme conditionneur de sol pour améliorer la productivité des cultures. Par conséquent, les produits à base d'algues peuvent ainsi améliorer la disponibilité des nutriments et la capacité de retenir l'eau, augmenter les antioxydants, améliorer le métabolisme, augmenter la production de chlorophylle et gérer les stress abiotiques et biotiques chez les plantes cultivées.

### **1. Recherche des algues à potentiel antibactérien vis-à-vis de *Dickeya dadantii* et de *Pectobacterium brasiliensis***

Actuellement, la plupart des études liées à la protection des cultures montrent un intérêt particulier pour le développement de nouvelles méthodes de contrôle plus sûres et efficaces plutôt que celles basées sur des pesticides chimiques.

Des études ont montré que les extraits des algues marines sont impliqués dans les processus d'activation des voies métaboliques secondaires qui agissent comme des éliciteurs des réactions de défense des plantes, conduisant à une résistance contre les agents pathogènes (Benhamou et Rey, 2012).

Ce travail concerne la recherche des substances à activité antibactérienne chez 24 espèces de macroalgues récoltées sur la côte atlantiques d'El Jadida (Sidi Bouzid) vis-à-vis de *Dickeya dadantii* et de *Pectobacterium brasiliensis* afin de sélectionner l'espèce la plus active.

#### **1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne**

En général, les extraits d'algues marines sont reconnus par leurs activités antimicrobiennes (Arunkumaret *al.*, 2010). L'activité antibactérienne des 24 espèces d'algues a été testée vis-à-vis de deux bactéries responsables de la pourriture molle chez la pomme de terre (*Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis*), elle a été recherchée dans trois extraits organiques et dans un extrait aqueux. Le degré d'activité est proportionnel au diamètre d'inhibition mesuré. Les résultats rapportés dans les tableaux 12, 13 et 14 sont la moyenne des valeurs obtenues pour quatre essais.

### 1.1.1. Les algues vertes

L'activité antibactérienne de ce groupe d'algues est résumée dans le tableau 12. Pour les trois extraits d'algues testés, la présence d'une faible activité vis-à-vis de *Dickeya dadantii* a été observée chez les différents extraits organiques avec un diamètre d'inhibition compris entre 8 mm et 10 mm. Par contre, une activité positive contre *Pectobacterium brasiliensis* a été observée chez l'extrait organique de *Codium elongatum* avec un diamètre d'inhibition modéré  $\leq$  à 12 mm.

Aucune activité antibactérienne n'a été détectée contre *Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis* pour les extraits aqueux.

**Tableau12** : Activité antibactérienne des extraits d'algues vertes vis-à-vis des bactéries du genre *Pectobacterium*

Algues	Solvant d'extraction	<i>Dickeya dadantii</i> ( <i>Erwinia chrysanthemi</i> )	<i>Pectobacterium brasiliensis</i>
<i>Codium elongatum</i>	DC	10±1	12±3
	MeOH	8±3	12±2
	DC/MeOH	8±5	12±4
<i>Ulva rigida</i>	DC	10±2	-
	MeOH	10±1	8±1
	DC/MeOH	10±1	8±3
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	DC	9±1	7±4
	MeOH	9±1	7±2
	DC/MeOH	-	7±4
<b>Témoin : Streptomycine</b>		12±1	

MeOH : Méthanol, DC : Dichlorométhane, - : pas d'activité

### 1.1.2. Les algues rouges

L'activité antibactérienne des extraits d'algues appartenant au groupe des rhodophycées (15 espèces) vis-à-vis des bactéries responsables de la pourriture molle de la pomme de terre n'est pas similaire et elle est variable chez les différents extraits (Tableau 13).

L'extrait méthanolique de *Ellisolandia elongata*, de *Hypnea musciformis* et de *Rhodymenia pseudopalmata* inhibe la croissance de *Dickeya dadantii* avec un diamètre d'inhibition qui varie de 15 mm à 18 mm, alors que l'extrait méthanolique de *Gracilaria cervicornis* et de *Rhodymenia pseudopalmata* inhibe la croissance de *Pectobacterium brasiliensis* avec un diamètre d'inhibition de 15 mm.

### PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre

Une activité importante avec un diamètre d'inhibition de 25 mm a été observée chez l'extrait méthanolique de *Halopitys incurvus* contre *Pectobacterium brasiliensis* et de 20 mm chez l'extrait dichlorométhane/méthanol.

Des zones d'inhibition supérieures ou égale à 15 mm ont été observées chez les extraits réalisés dans le mélange dichlorométhane/méthanol (50:50) des algues suivantes : *Ellisolandia elongata*, *Gigartina acicularis*, *Hypnea musciformis*, *Corallina officinalis* et *Gracilaria cervicornis* contre *Dickeya dadantii* et chez l'extrait de *Ellisolandia elongata* et de *Osmundea pinnatifida* contre *Pectobacterium brasiliensis*.

Par contre, les extraits de *Ellisolandia elongata*, de *Gigartina acicularis*, de *Rhodomenia pseudopalmata*, de *Hypnea musciformis* et de *Gymnogongrus crenulatus* préparés dans le dichlorométhane ont montré une inhibition contre *Dickeya dadantii* avec un diamètre inférieur ou égale à 14 mm.

Pour les tests *in vitro*, aucune activité antibactérienne n'a été détectée contre *Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis* pour les extraits aqueux.

**PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre**

**Tableau13** : Activité antibactérienne des extraits d'algues rouges vis-à-vis des bactéries du genre *Pectobacterium*

<b>Algues</b>	<b>Solvants d'extraction</b>	<b><i>Dickeya dadantii</i> (<i>Erwinia chrysanthemi</i>)</b>	<b><i>Pectobacterium brasiliensis</i></b>
<i>Gigartina acicularis</i>	DC	14±2	9±1
	MeOH	13±3	8±2
	DC/MeOH	18±3	11±3
<i>Hypnea musciformis</i>	DC	12±1	8±3
	MeOH	17±2	9±3
	DC/MeOH	15±2	8±3
<i>Corallina officinalis</i>	DC	10±1	11±2
	MeOH	13±4	11±3
	DC/MeOH	15±2	12±3
<i>Asparagopsis armata</i>	DC	-	10±3
	MeOH	11±1	11±3
	DC/MeOH	8±1	13±3
<i>Rhodymenia pseudopalmata</i>	DC	13±1	10±1
	MeOH	15±2	15±3
	DC/MeOH	13±1	14±3
<i>Gigartina teedii</i>	DC	-	7±2
	MeOH	-	7±2
	DC/MeOH	-	11±3
<i>Halopitys incurvus</i>	DC	8±2	13±2
	MeOH	16±1	25±3
	DC/MeOH	12±2	20±4
<i>Gracilaria multipartita</i>	DC	-	11±3
	MeOH	-	8±3
	DC/MeOH	10±2	12±3
<i>Ellisolandia elongata</i>	DC	12±2	12±1
	MeOH	18±1	11±2
	DC/MeOH	16±1	16±2
<i>Osmundea pinnatifida</i>	DC	8±5	10±3
	MeOH	8±3	11±3
	DC/MeOH	8±4	15±2
<i>Gracilaria cervicornis</i>	DC	11±1	12±3
	MeOH	8±3	16±2
	DC/MeOH	17±2	13±2
<i>Gymnogongrus crenulatus</i>	DC	12±2	10±3
	MeOH	10±1	12±3
	DC/MeOH	8±4	11±4
<i>Gelidium corneum</i>	DC	9±3	11±3
	MeOH	9±4	11±3
	DC/MeOH	12±2	11±3
<i>Gelidium pulchellum</i>	DC	10±1	10±3
	MeOH	11±1	11±2
	DC/MeOH	10±1	10±1
<i>Plocamium cartilagineum</i>	DC	11±2	10±3
	MeOH	14±1	12±3
	DC/MeOH	11±2	14±3
<b>Témoin : Streptomycine</b>		12±1	

MeOH : Méthanol, DC : Dichlorométhane, - : pas d'activité

### 1.1.3. Les algues brunes

L'activité antibactérienne des extraits d'algues appartenant au groupe des phéophycées vis-à-vis des différentes bactéries étudiées est résumée dans le tableau 14.

Ces résultats montrent que sur les six algues brunes testées, quatre espèces ont montré une activité positive contre les bactéries étudiées. Une activité importante contre *Dickeya dadantii* avec un diamètre d'inhibition supérieure à 15 mm a été observée chez l'extrait de dichlorométhane de *Bifurcaria bifurcata* et chez l'extrait préparé dans le mélange dichlorométhane/méthanol de *Bifurcaria bifurcata* et de *Laminaria digitata*.

Une activité antibactérienne  $\geq 15$  mm a été également observée chez les extraits de *Cystoseira humilis* préparés dans le méthanol et dans le mélange dichlorométhane/méthanol. Par contre les extraits organiques de *Fucus spiralis*, de *Sargassum vulgare* et de *Cystoseira tamariscifolia* ont montré une inhibition  $\leq 12$  mm.

Aucune activité antibactérienne n'a été détectée contre *Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis* pour les extraits aqueux.

**Tableau 14** : Activité antibactérienne des extraits d'algues brunes vis-à-vis des bactéries du genre *Pectobacterium*

Algues	Solvants d'extraction	<i>Dickeya dadantii</i> ( <i>Erwinia chrysanthemi</i> )	<i>Pectobacterium brasiliensis</i>
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	DC	18±2	9±1
	MeOH	12±2	16±3
	DC/MeOH	15±4	17±4
<i>Fucus spiralis</i>	DC	8±4	10±1
	MeOH	10±1	11±3
	DC/MeOH	12±2	11±4
<i>Laminaria digitata</i>	DC	13±2	12±1
	MeOH	8±3	12±1
	DC/MeOH	15±3	10±3
<i>Sargassum vulgare</i>	DC	10±1	8±2
	MeOH	8±3	10±3
	DC/MeOH	12±1	11±4
<i>Cystoseira tamariscifolia</i>	DC	8±3	-
	MeOH	8±2	8±2
	DC/MeOH	8±3	8±3
<i>Cystoseira humilis</i>	DC	7±2	12±3
	MeOH	9±2	21±3
	DC/MeOH	10±2	15±4
<b>Témoin : Streptomycine</b>		12±1	

MeOH : Méthanol, DC : Dichlorométhane, - : pas d'activité

## **1.2. Discussion**

Sur les 24 espèces d'algues étudiées (15 algues rouges, 6 algues brunes et 3 algues vertes), celles qui appartiennent au groupe des phéophycées et rhodophycées étaient les plus actives, tandis que les chlorophycées ont montré une activité antibactérienne modérée.

Les extraits organiques des rhodophycées étudiés ont fortement inhibé la croissance des deux souches bactériennes (*Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis*) testées et ont donné des zones d'inhibition entre 20 et 24 mm. Les résultats indiquent que ces espèces d'algues présentent une capacité importante d'activités antibactériennes, ce qui les rend intéressantes pour le développement d'un bio-pesticide.

Dans cette étude, l'activité antibactérienne des extraits organiques a été plus importante que celle obtenue par les extraits aqueux. Ces résultats montrent que les bactéries responsables de la pourriture molle de la pomme de terre présentent une sensibilité très importante aux extraits d'algues. Ainsi, l'inhibition des bactéries responsables de la pourriture molle de la pomme de terre (*Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis*) par les différents extraits dépend de la nature du solvant d'extraction utilisé, le mélange dichlorométhane/méthanol (50/50) s'est révélé le meilleur solvant d'extraction comparé aux autres solvants organiques suivi par le méthanol.

Dans le présent travail, nous avons démontré que, les extraits organiques d'algues rouges et d'algues brunes présentent une inhibition des bactéries plus efficacement que le témoin (Streptomycine) (Tableaux 12, 13 et 14). Ces résultats sont en accord avec les études de Kumar et *al.* (2008) qui ont montré que l'activité antibactérienne la plus élevée a été observée chez les Phéophycées, suivie des Rhodophycées et Chlorophycées, 70 % de l'activité antibactérienne a été enregistrée chez les extraits d'algues brunes, 30 % chez les extraits d'algues rouges et seulement 15 % chez les extraits d'algues vertes. Pesando et Caram (1984) ont signalé aussi une activité antibactérienne maximale chez les Phéophycées suivie des Rhodophycées.

Dans ce contexte, les algues marines représentent une grande source et une grande variété de produits naturels complexes qui pourraient être une source prometteuse d'un nouveau composé bioactif qui pourrait aider à la survie des plantes en offrant une protection contre le stress imposé par les agents pathogènes (Delattre et *al.*, 2005 ; Chandía et Matsuhiro, 2008 ; Vera et *al.*, 2011). Une telle capacité a été développée comme une défense contre de nombreux organismes, qui coexistent et interagissent dans le même environnement complexe (Blunt et *al.*, 2006).

Plusieurs études ont rapporté l'effet antimicrobien *in vitro* des extraits d'algues sur les maladies des plantes. Par exemple, des extraits de *Sargassum wightii* ont montré une importante activité contre *Pseudomonas syringae*, l'agent causal de la maladie des taches foliaire chez la plante médicinale *Gymnema sylvestre* (Kumar et al., 2008) et contre *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*, l'agent causal des brûlures bactérienne du riz (Arunkumar et al., 2005). Ara et al. (2005) ont découvert que des fractions contenant des esters d'acides gras provenant d'un extrait de *Spatoglossum asperum* inhibaient la croissance des pathogènes du sol *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium solani* qui peuvent causer des dégâts importants chez les plantes cultivées.

De même, des études ont montré que des extraits lipidiques de plus de vingt algues trouvées le long de la côte de la Sicile orientale ont inhibé la croissance *in vitro* de certaines bactéries phytopathogènes telles que la *Xanthomonas malvacearum* (Caccamese et al., 1980).

## **2. Etude de la possibilité d'utilisation des extraits d'algues comme bio-pesticides contre la pourriture molle de la pomme de terre**

Cette partie est consacrée à l'étude de l'utilisation des extraits d'algues marines en tant que bio-pesticide pour lutter contre les maladies phytopathogènes essentiellement la pourriture molle de la pomme de terre causée par *Dickeya dadantii*.

Les maladies phytopathogènes sont un facteur limitant de la production agricole, c'est pourquoi la recherche scientifique essaie de développer des techniques adéquates pour limiter les effets de ces maladies sur la productivité agricole. La nécessité de mettre en place un système agricole tenant compte du développement durable, a favorisé de nombreuses initiatives visant à développer des méthodes alternatives afin de réduire l'utilisation des pesticides chimiques de synthèse. Parmi ces alternatives, on peut citer l'utilisation d'agents de lutte biologique ou bio-pesticides qui ont suscité un intérêt croissant en raison de leurs avantages écologiques. La stimulation des défenses naturelles des plantes est considérée comme l'une des stratégies alternatives la plus prometteuse pour la protection des cultures (Walters et Fountaine, 2009). Cette approche biologique d'origine naturelle n'exerce pas d'effets directs sur l'agent pathogène (Kuc, 2006 ; Walters et Fountaine, 2009), mais stimule les défenses naturelles des plantes, conduisant à une résistance systémique acquise (Vallad et Goodman, 2004).

En phytopathologie, les algues marines représentent une grande source de produits naturels complexes qui pourraient être une source prometteuse de nouveaux composés bioactifs, ces derniers peuvent aider à la survie des plantes en offrant une protection contre le stress

imposé par des agents pathogènes. Les algues peuvent avoir également plusieurs applications dans l'agriculture. Elles sont utilisées comme engrais par pulvérisation sur un certain nombre de cultures, avec un large éventail d'effets bénéfiques tels que l'amélioration du rendement, la résistance accrue au stress biotique ou abiotique et le contrôle de la floraison et de la maturation des fruits. En effet, les algues marines représentent une source abondante et naturelle d'éliciteurs potentiels (Delattre et *al.*, 2005).

## **2.1. Effet protecteur et fertilisant des extraits d'algues**

### **2.1.1. Effet des extraits d'algues sur l'expression des symptômes de la pourriture molle de pomme de terre**

L'application externe des substances élicitrices sur une plante, contribue à stimuler les attaques externes. Ils agissent comme le vaccin en stimulant le système immunitaire chez les plantes. Ces éliciteurs ont essentiellement une action préventive.

Pour montrer une protection possible par les extraits d'algues, l'incidence de la maladie a été déterminée en fonction des jours de l'expérience, tous les trois jours pendant un mois. L'évaluation de l'efficacité des produits appliqués est réalisée en déterminant le niveau d'infection des plantes, celle-ci est basée sur des observations visuelles en se référant aux symptômes provoqués par *Dickeya dadantii*.

Pour cela, quatre paramètres indicatifs de la gravité de la maladie ont été suivis, le flétrissement ou le jaunissement des feuilles, l'enroulement des feuilles, le flétrissement des branches et l'indice de brunissement vasculaire (Pérombelon et Kelman, 1980).

Les espèces d'algues étudiées (*Bifurcaria bifurcata*, *Laminaria digitata*, *Gracilaria cervicornis*, *Plocamium cartilagineum*, *Ellisolandia elongata*, *Halopitys incurvus*) sont choisies en fonction de leur abondance et de leur activité antibactérienne *in vitro* très élevées contre les bactéries de genre *Pectobacterium* (*Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis*) responsables de la pourriture molle chez la pomme de terre.

Les résultats obtenus ont montré que l'incidence de la maladie était élevée chez les plantes traitées avec le pesticide de référence (Systemil 72WP) ou sans traitement (plantes inoculées non traitées) : 100 % des plantes présentaient des symptômes de pourriture molle causée par *Dickeya dadantii*. Cependant, la maladie a été considérablement réduite lorsque la plante a été prétraitée avec différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues (*Bifurcaria bifurcata*, *Laminaria digitata*, *Gracilaria cervicornis*, *Plocamium cartilagineum*, *Ellisolandia*

*elongata*, *Halopitys incurvus*). L'application d'extraits aqueux d'algues à 4 g/L, 8 g/L et à 16 g/L 7 jours avant l'inoculation avec *Dickeya dadantii* a entraîné une réduction de l'incidence de la maladie par rapport aux plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Cette réduction était considérable à partir du huitième jour de l'inoculation pour les différentes concentrations. L'incidence de la maladie a diminué à 90 % chez les plantes prétraitées avec les extraits aqueux d'algues brunes et rouges (Annexe 5).

Le pourcentage de réduction de la maladie (PRM) a été calculé selon la formule décrite par Hajhamed *et al.* (2007) :

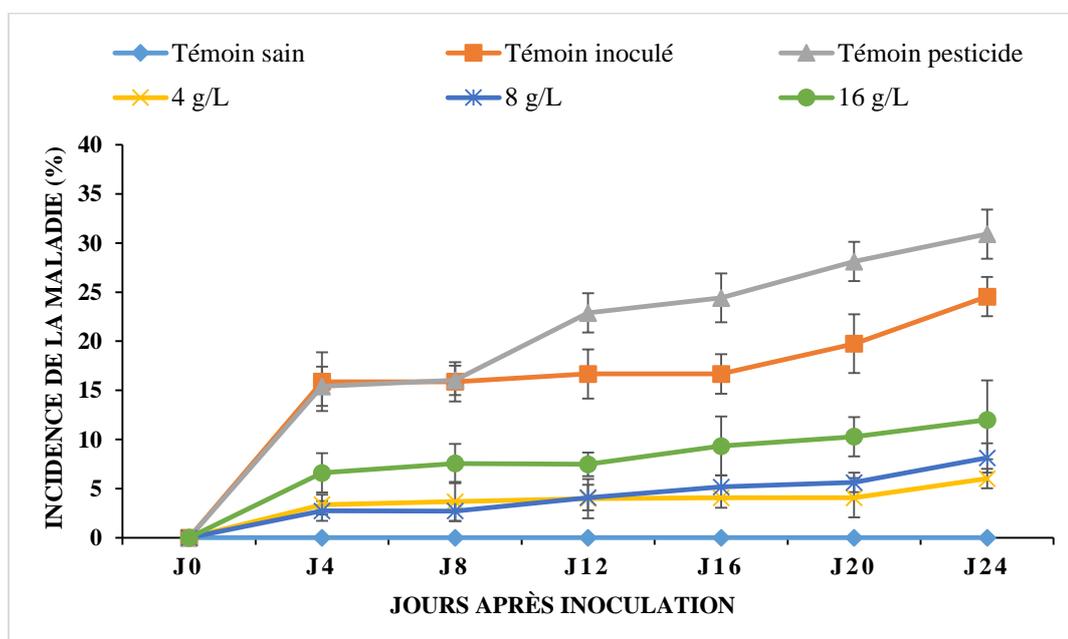
$$PRM = \frac{Ack - Atr}{Ack} \times 100$$

Où Ack et Atr représentent la gravité de la maladie chez le témoin et l'échantillon traité, respectivement.

### 2.1.1.1. Enroulement des feuilles

#### a. *Halopitys incurvus*

Le développement de la maladie a été évalué sur des plantes prétraitées avec de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* et comparé à un témoin négatif (plante inoculée non traitée) et à un témoin positif (plante traitée par un pesticide de référence Systemil 72WP) (Fig. 22).



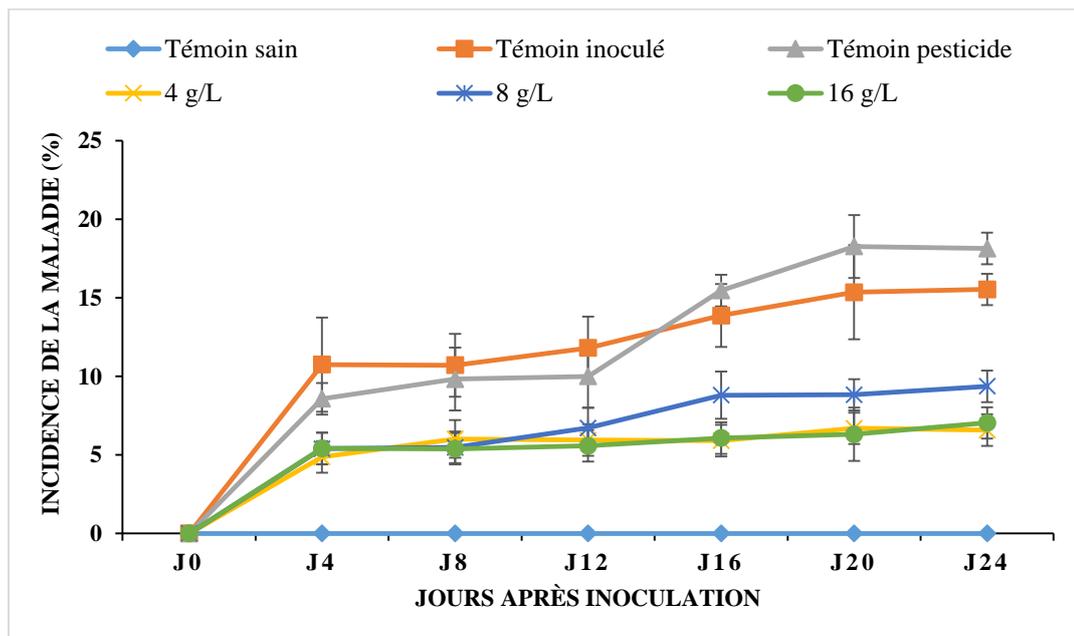
**Figure 22 :** Effet de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

L'application de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* a réduit la gravité de l'enroulement des feuilles à environ 80 % en comparaison avec les plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72W.

Cette réduction est d'environ 83 % chez les plantes prétraitées par 4 g/L d'extrait aqueux en comparaison avec les plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP suivi par celle prétraitées par 8 g/L et 16 g/L d'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* (Fig. 22).

**b. *Laminaria digitata***

L'enroulement des feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* a été également enregistré 24 jours après l'inoculation avec *Dickeya dadantii* pour surveiller la gravité de la maladie (Fig. 23).



**Figure 23 :** Effet de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

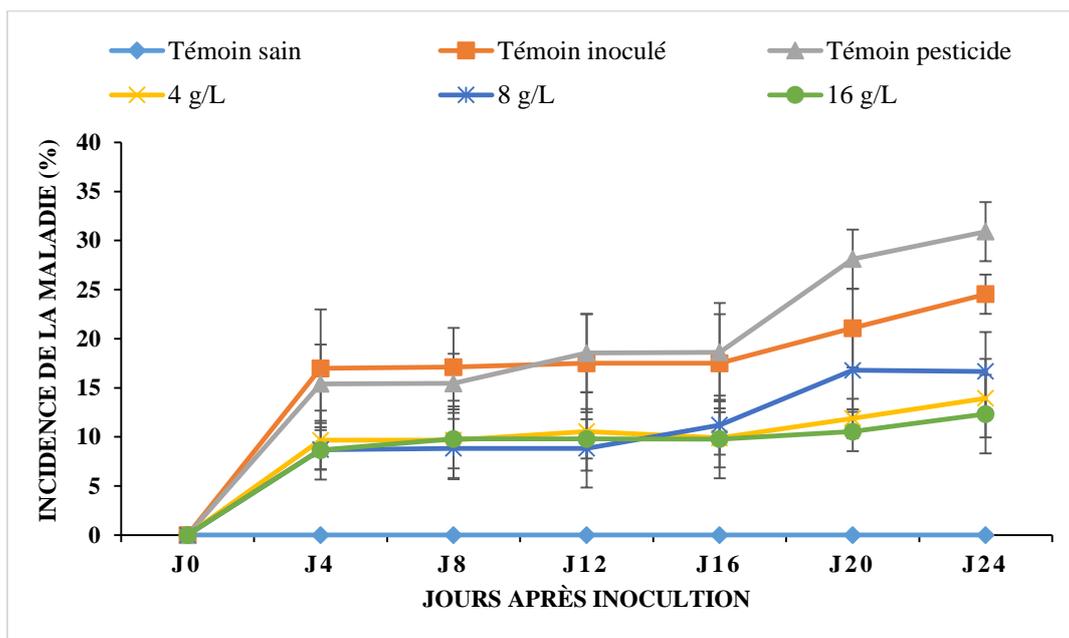
L'incidence de l'enroulement des feuilles a été réduite à environ 60 % chez les plantes de pomme de terre inoculées et prétraitées par les extraits aqueux de *Laminaria digitata* en comparaison avec les plantes témoins traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Cette réduction est observée chez les plantes prétraitées par 8 g/L d'extrait aqueux.

L'extrait aqueux de *Laminaria digitata* a réduit le symptôme de l'enroulement des feuilles chez les plantes prétraitées avec 4 g/L à environ 66 %, alors que c'était considérablement

moins affecté chez les plantes prétraitées avec 8 g/L d'extrait aqueux de *Laminaria digitata* (Fig. 23).

**c. *Gracilaria cervicornis***

L'indice de l'enroulement des feuilles causé par *Dickeya dadantii* a été déterminé à 24 jours après inoculation chez les plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* (Fig. 24).



**Figure 24 :** Effet de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

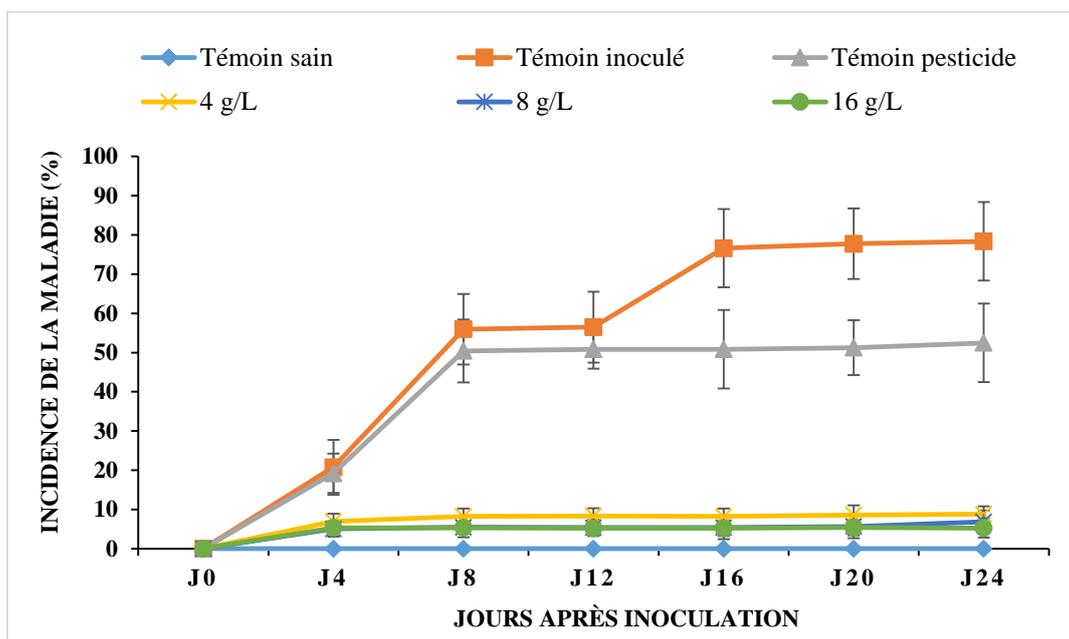
Une différence considérable a été observée entre les plantes inoculées et traitées par le pesticide Systemil 72WP et celle prétraitées par l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*.

L'enroulement des feuilles des plantes de pomme de terre causé par *Dickeya dadantii* a été réduit à environ 50 % après l'application de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*, cette réduction est maximale chez les plantes inoculées et prétraitées par 16 g/L d'extrait aqueux d'algue en comparaison avec les plantes inoculées et traitées ou non par le pesticide Systemil 72WP (Fig. 24).

**d. *Plocamium cartilagineum***

L'indice de l'enroulement des feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations a été également

enregistré 24 jours après l'inoculation avec *Dickeya dadantii* afin de surveiller la gravité de la maladie (Fig. 25).



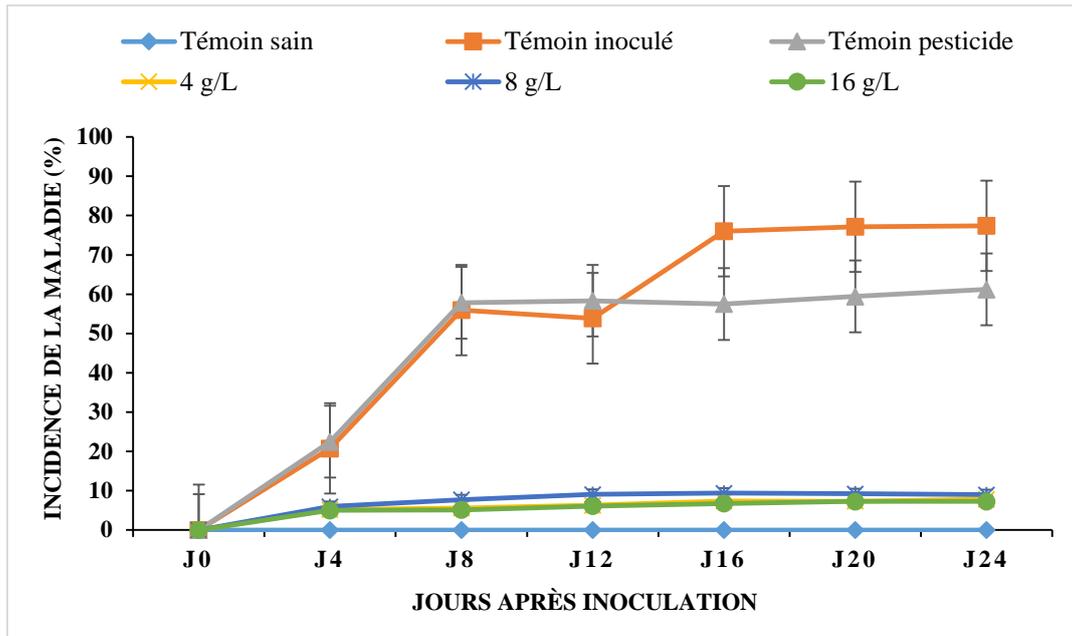
**Figure 25 :** Effet de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

L'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations assure une forte réduction de l'incidence de la pourriture molle causée par *Dickeya dadantii* chez les plantes de pomme de terre à environ 80 % en comparaison avec les plantes témoins traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP (Fig. 25).

Cette réduction est clairement observée chez les plantes de pomme de terre prétraitées avec les différentes concentrations d'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* et surtout à 4 g/L.

#### **e. *Bifurcaria bifurcata***

L'effet de l'application de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* a été évalué en comparaison avec les plantes témoins inoculées et traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP (Fig. 26).

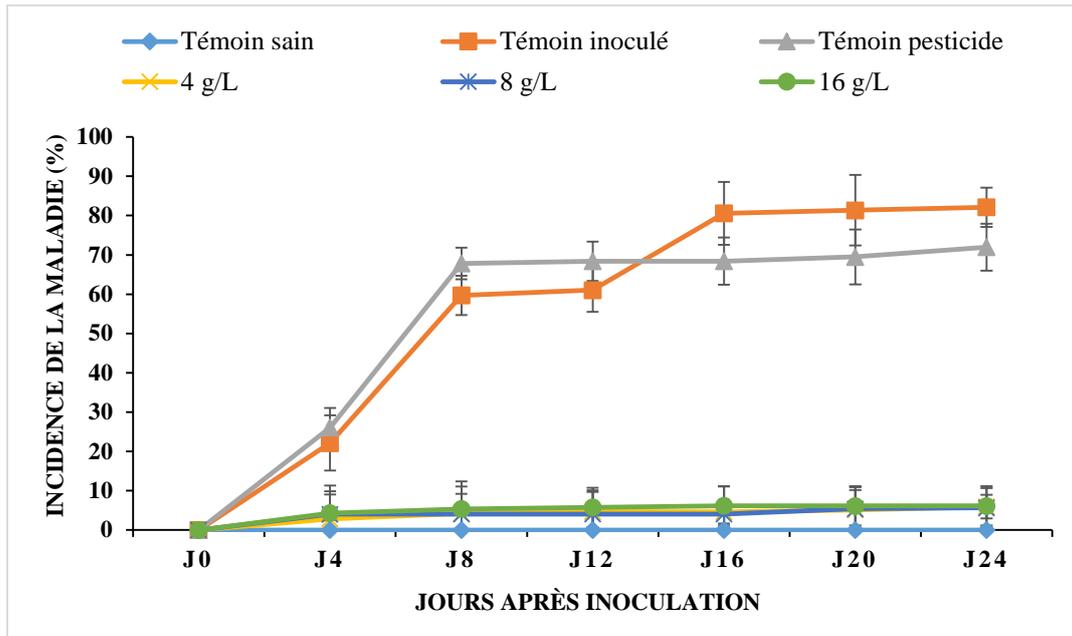


**Figure 26 :** Effet de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

De même, l'incidence de l'enroulement des feuilles des plantes de pomme de terre a été réduite chez les plantes inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations. La réduction de l'enroulement des feuilles a été considérablement supérieure à celle observée chez les plantes traitées par le pesticide Systemil 72WP. Cette réduction était d'environ 92 % chez les plantes prétraitées par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* en comparaison aux plantes témoins inoculées et traitées par le pesticide Systemil 72WP (Fig. 26).

#### f. *Ellisolandia elongata*

L'indice de l'enroulement des feuilles a été suivi pendant 24 jours chez les plantes de pomme de terre prétraitées ou non par l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* (Fig. 27).



**Figure 27 :** Effet de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations sur l'enroulement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

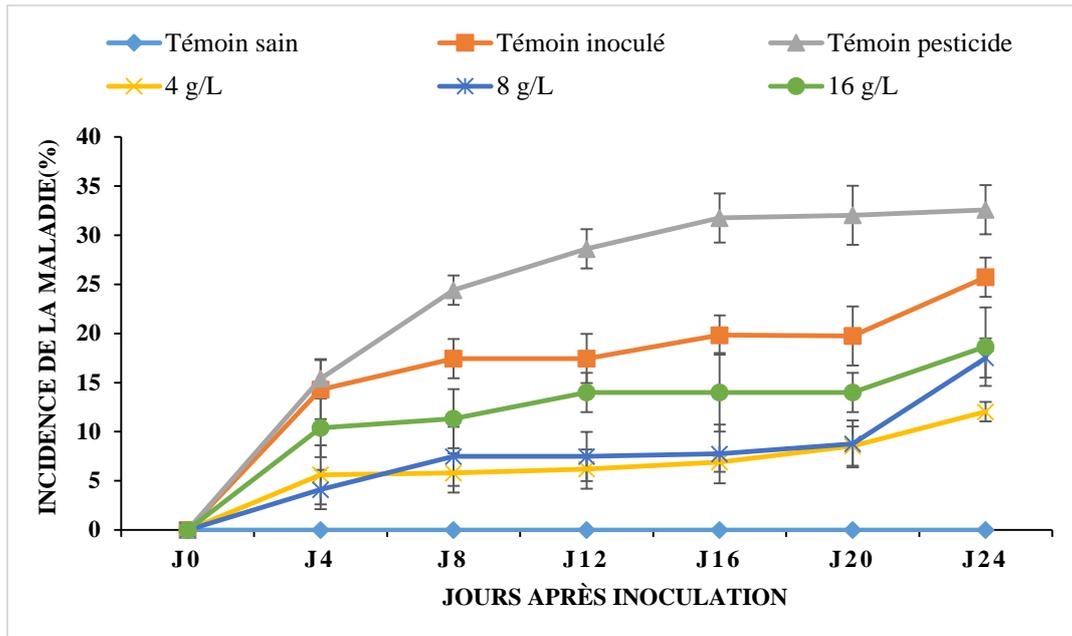
Chez les plantes traitées avec un pesticide de référence, la gravité de la maladie a augmenté progressivement à partir du 4<sup>ème</sup> jour jusqu'au 24<sup>ème</sup> jour après inoculation.

L'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations assure une forte réduction de l'incidence de la pourriture molle représentée par l'enroulement des feuilles et causée par *Dickeya dadantii* de plus de 85 % en comparaison avec les plantes témoins inoculées et traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP qui donnaient à la fin de l'expérience un pourcentage de protection d'environ 13 %. Ce pourcentage est passé à 93 % chez les plantes prétraitées avec différentes concentrations d'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* (Fig. 27).

#### 2.1.1.2. Flétrissement ou jaunissement des feuilles

##### a. *Halopitys incurvus*

L'incidence du flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* et inoculées par *Dickeya dadantii* a été évaluée en comparaison avec les plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP (Fig. 28).



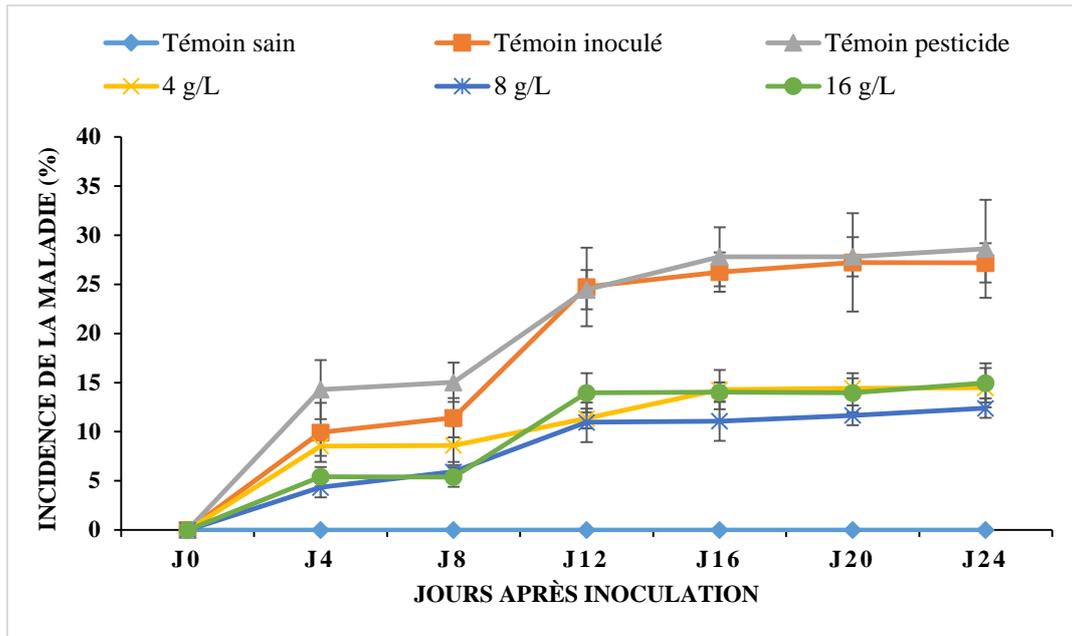
**Figure 28 :** Effet de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

La figure ci-dessous montre l'effet des extraits aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii*.

Le traitement des plantes par les extraits aqueux de *Halopitys incurvus* a montré une réduction du flétrissement ou jaunissement des feuilles d'une manière considérablement supérieure à celle des plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Le pourcentage de réduction du symptôme était d'environ de 85 % pour les plantes prétraitées par l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à une concentration de 4 g/L (Fig. 28).

### **b. *Laminaria digitata***

Le développement de flétrissement ou jaunissement des feuilles a été évalué sur les plantes de pomme de terre prétraitées avec les extraits aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations et par rapport à des plantes inoculées et traitées ou non par un pesticide de référence (Fig. 29).

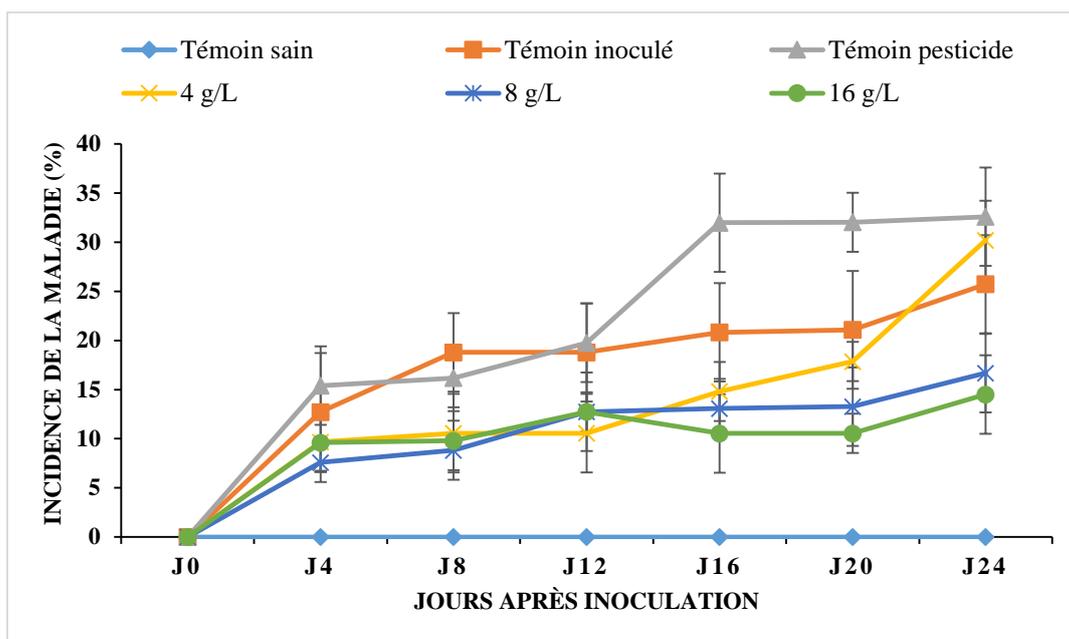


**Figure 29 :** Effet de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

Le flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes de pomme de terre a été enregistré 24 jours après l'inoculation par *Dickeya dadantii*. Les résultats obtenus ont montré que l'application de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à 4 et à 7 jours avant l'inoculation avec *Dickeya dadantii* induit une réduction de l'incidence de la maladie à environ 60 % par rapport aux plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Cette réduction a été considérablement supérieure chez les plantes prétraitées par 8 g/L d'extrait aqueux de *Laminaria digitata* où l'incidence de la maladie atteint 66 % (Fig. 29).

### c. *Gracilaria cervicornis*

L'indice de la maladie représenté par le flétrissement ou jaunissement des feuilles de pomme de terre a été suivi pendant 24 jours chez les plantes prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux de *Gracilaria cervicornis* (Fig. 30).

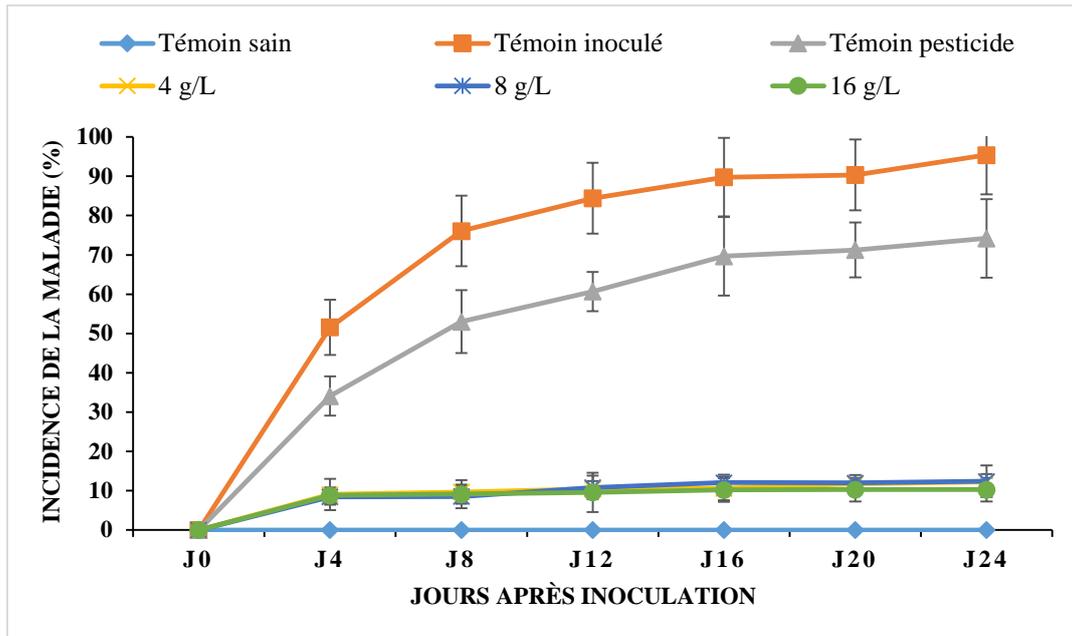


**Figure 30 :** Effet de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

L'incidence du flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes de pomme de terre était élevée chez les plantes inoculées et traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Cependant, cela a été considérablement réduit lors de l'application de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations, l'état des plantes a été amélioré car les plantes prétraitées par l'extrait aqueux de l'algue représentent seulement 10 % de l'incidence de la maladie c'est-à-dire une réduction de 71 % de la maladie, cette réduction est maximale chez les plantes inoculées et prétraitées par 16 g/L d'extrait aqueux (Fig. 30).

#### **d. *Plocamium cartilagineum***

L'incidence de la pourriture molle sur les plantes de pomme de terre représentée par le flétrissement ou jaunissement des feuilles a été évaluée chez des plantes inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations et en comparaison avec des plantes inoculées et traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP (Fig. 31).



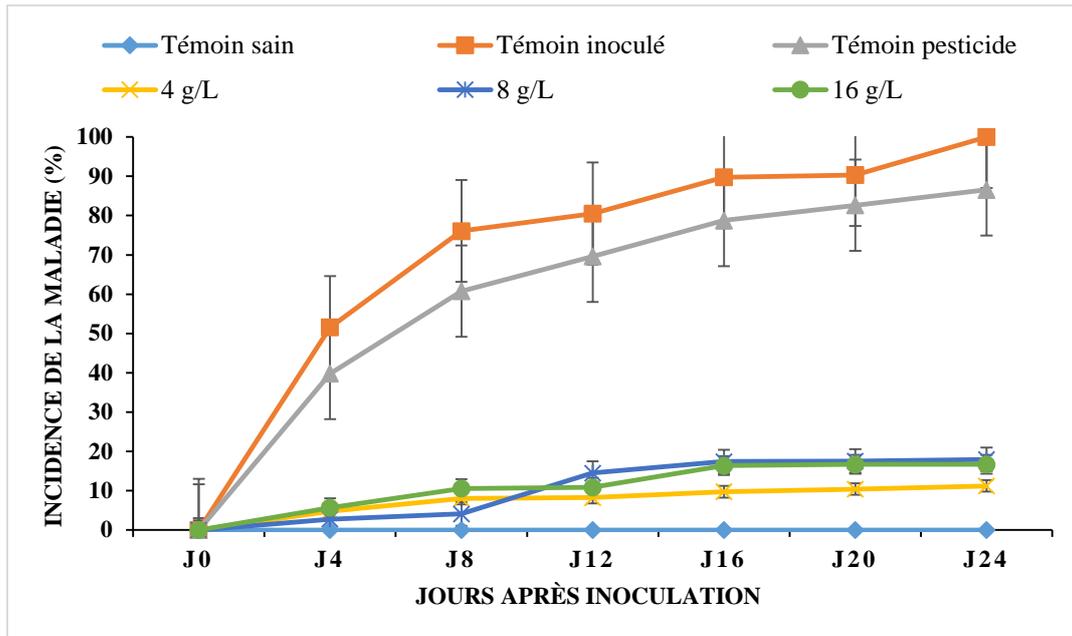
**Figure 31 :** Effet de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

L'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations assure une forte réduction de flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre à environ 86 % en comparaison avec les plantes témoins traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP.

La gravité de la maladie a été réduite à 10 % chez les plantes prétraitées par les trois concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* (Fig. 31).

#### e. *Bifurcaria bifurcata*

Le développement de la maladie représenté par le flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes de pomme de terre a été évalué chez des plantes inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées avec les extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations et comparé à des plantes inoculées et traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP (Fig. 32).



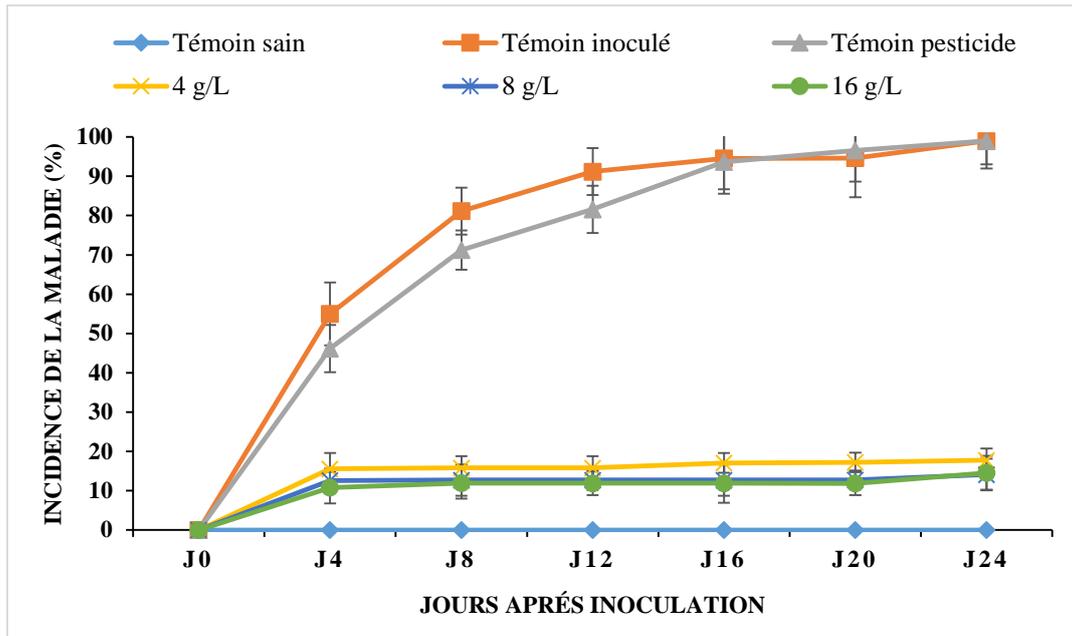
**Figure 32 :** Effet de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

L'application de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* sur les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* induit une importante réduction de flétrissement ou jaunissement des feuilles.

L'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* a réduit considérablement l'incidence du flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes prétraitées avec 4 g/L d'extrait, cette réduction est observée le long de l'expérience. Le pourcentage de protection était d'environ 90 %, alors que le flétrissement ou jaunissement des feuilles était moins réduit chez les plantes prétraitées avec 8 g/L et 16 g/L d'extrait aqueux à environ 80 % par rapport aux plantes inoculées et traitées par le pesticide Systemil 72WP (Fig. 32).

#### f. *Ellisolandia elongata*

Pour montrer l'effet protecteur de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations sur la gravité de la pourriture molle chez les plantes de pomme de terre, l'incidence de flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes de pomme de terre a été déterminée à la fin de l'expérience (24 jours) (Fig. 33).



**Figure 33 :** Effet de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations sur le flétrissement ou jaunissement des feuilles chez les plantes de pomme de terre

L'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* a été testé à trois concentrations (4 g/L, 8 g/L, 16 g/L).

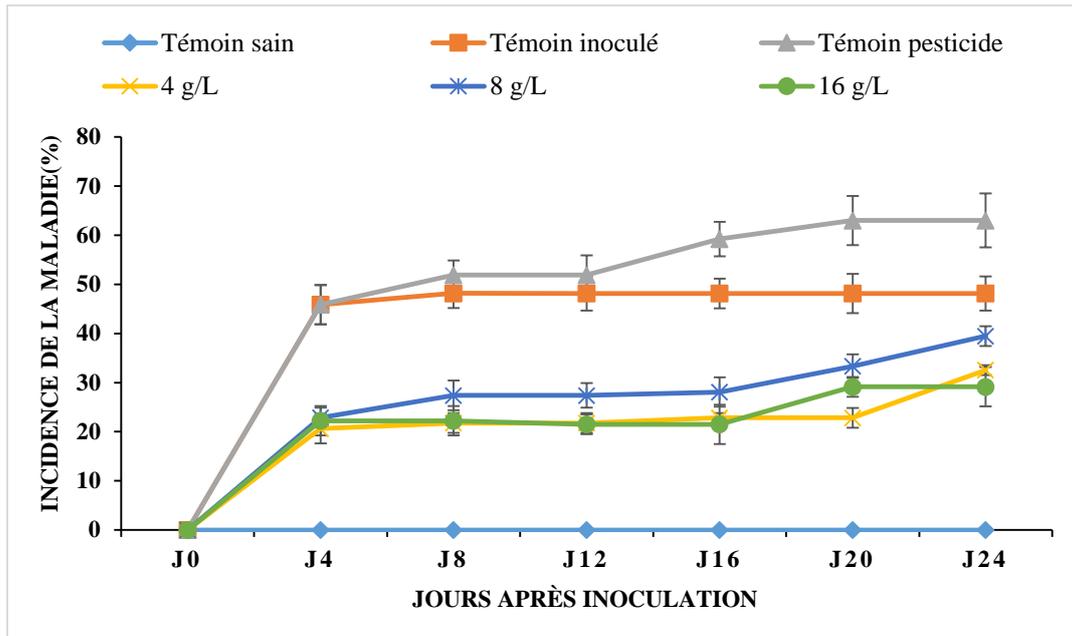
L'incidence de la maladie était élevée chez les plantes traitées avec le pesticide Systemil 72WP, alors qu'elle est considérablement réduite chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*.

L'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* offre une protection d'environ 90 % vis-à-vis du flétrissement ou jaunissement des feuilles des plantes de pomme de terre inoculée par *Dickeya dadantii*, alors qu'elle était considérablement moins réduite chez les plantes traitées avec le pesticide Systemil 72WP (Fig. 33).

### 2.1.1.3. Flétrissement des branches

#### a. *Halopitys incurvus*

L'effet de l'application de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* sur l'incidence du flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* a été évalué en comparaison avec les plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Le flétrissement des branches a été également enregistré 24 jours après l'inoculation avec *Dickeya dadantii* (Fig. 34).

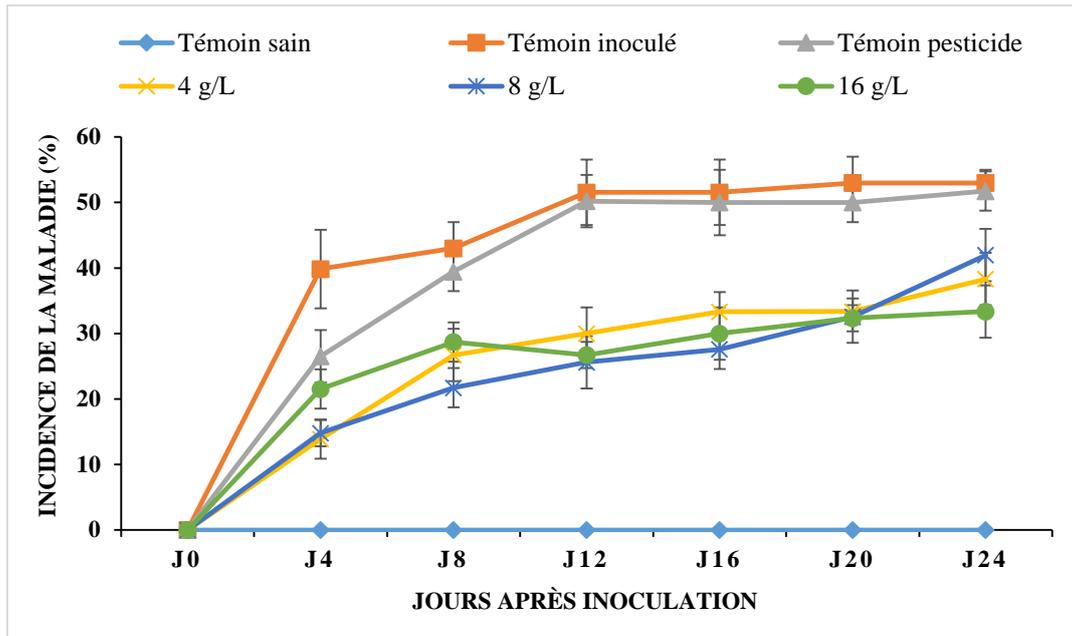


**Figure 34 :** Effet de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre

Le traitement des plantes infectées par les extraits aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations a réduit la gravité du symptôme causé par *Dickeya dadantii* à environ 66 % en comparaison avec les plantes témoins traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP qui montre une réduction de la maladie moins intense. Cette réduction est considérablement supérieure chez les plantes inoculées et prétraitées par 4 g/L d'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* (Fig. 34).

#### b. *Laminaria digitata*

L'incidence de la maladie (flétrissement des branches) chez les plantes de pomme de terre inoculées et prétraitées par les extraits aqueux de *Laminaria digitata* en comparaison avec les plantes témoins traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP a été étudiée (Fig. 35).

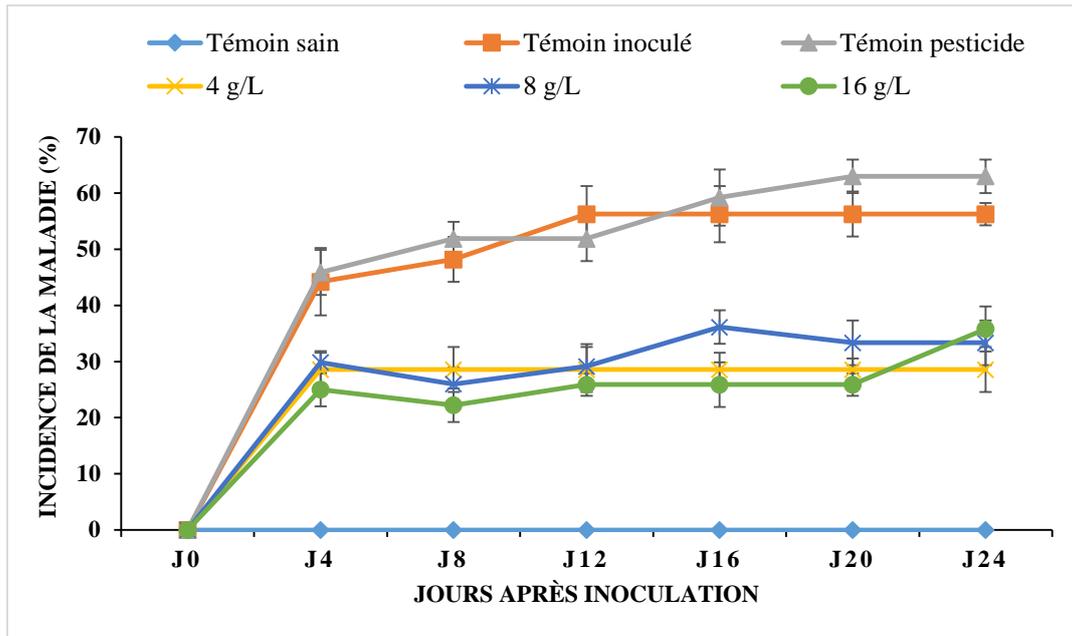


**Figure 35 :** Effet de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre

L'application des extraits aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations (4 g/L, 8 g/L, 16 g/L) sur les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* a permis la réduction du flétrissement des branches à 40 % en comparaison au plantes témoins inoculées et traitées ou non par le pesticide de référence Systemil 72WP. Cette réduction est considérablement supérieure chez les plantes prétraitées par 8 g/L d'extrait (Fig. 35).

### c. *Gracilaria cervicornis*

Le développement du flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre inoculées avec *Dickeya dadantii* et prétraitées ou non par l'application de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations a été évalué le long de l'expérience (Fig. 36).



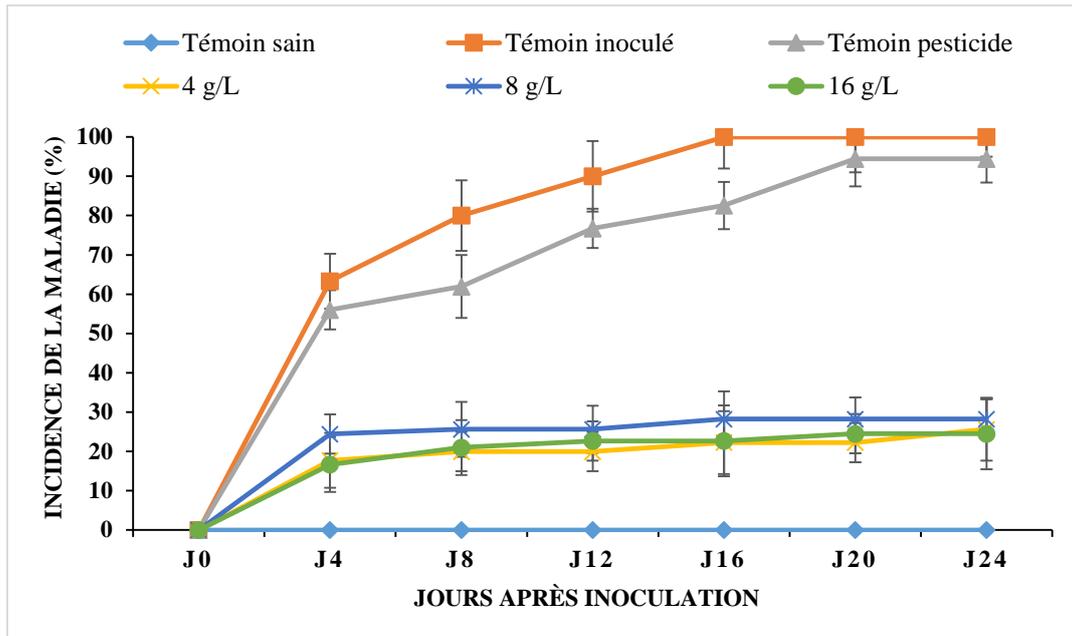
**Figure 36 :** Effet de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre

Les résultats obtenus ont montré que l'application de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à 16 g/L, 7 et 4 jours avant l'inoculation avec *Dickeya dadantii* induit une réduction importante de l'incidence de la maladie par rapport au traitement par un pesticide de référence.

Cette réduction a été considérable à partir du huitième jour de l'inoculation. L'incidence de la maladie a atteint 30 % et 35 % chez les plantes prétraitées avec 4 g/L et 8 g/L d'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* respectivement, alors qu'elle a diminué à environ 25 % chez les plantes prétraitées par 16 g/L d'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*, par contre, elle est de 65 % chez les plantes traitées par le pesticide de référence « Systemil 72WP » (Fig. 36).

#### d. *Plocamium cartilagineum*

L'effet de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations sur l'incidence du flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre a été évalué en comparaison avec les plantes témoins traitées ou non par le pesticide de référence « Systemil 72WP » (Fig. 37).



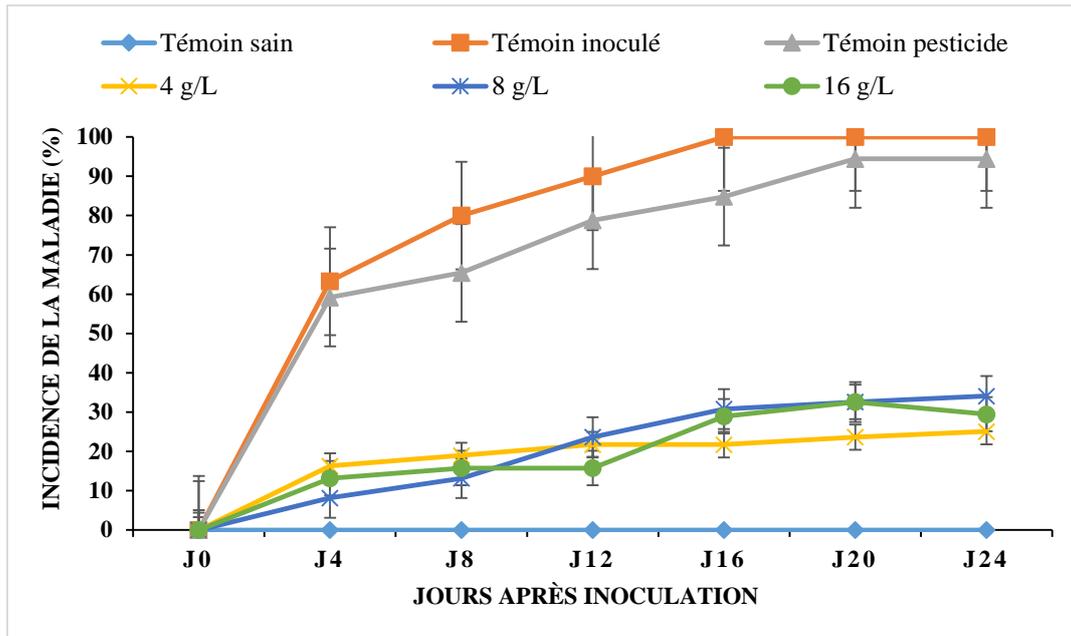
**Figure 37 :** Effet de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre

L'incidence du flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre inoculées et prétraitées par l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations a été considérablement réduite et supérieure à celle observée chez les plantes témoins traitées avec le pesticide Systemil 72WP.

Cette réduction a été considérable à partir du huitième jour de l'inoculation. À la fin de l'expérience, l'incidence du flétrissement des branches a atteint une réduction d'environ 77 % chez les plantes prétraitées avec 4 g/L d'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*, alors qu'elle était réduite à environ 70 % chez les plantes prétraitées avec 8 g/L et 16 g/L d'extrait aqueux en comparaison avec les plantes témoins traitées avec le pesticide Systemil 72WP (Fig. 37).

#### **e. *Bifurcaria bifurcata***

Le développement de la maladie représenté par le flétrissement des branches a été évalué le long de l'expérience chez les plantes prétraitées avec différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* en comparaison aux plantes inoculées par *Dickeya dadantii* et non traitées (comme un contrôle négatif) et aux plantes inoculées par *Dickeya dadantii* et traitées par un pesticide de référence (comme un contrôle positif) (Fig. 38).

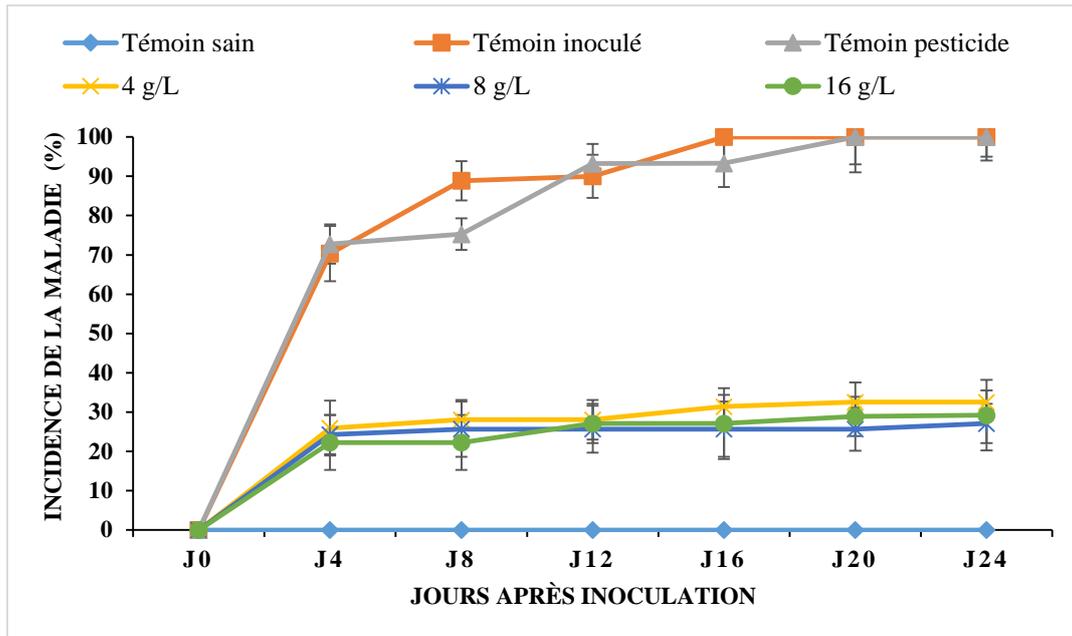


**Figure 38 :** Effet de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre

Les résultats ont montré que l'application de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* sur les plantes de pomme de terre à 7 et à 4 jours avant l'inoculation avec *Dickeya dadantii* induit une réduction de l'incidence de la maladie à environ 80 % par rapport au traitement par un pesticide de référence « Systemil 72WP ». Cette réduction a été considérable à partir du quatrième jour de l'inoculation. L'expression du flétrissement des branches a été réduite à 78 % chez les plantes prétraitées avec 8 g/L et 16 g/L d'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*, alors qu'elle était réduite à 80 % chez les plantes prétraitées par 4 g/L d'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* (Fig. 38).

#### f. *Ellisolandia elongata*

De même, le développement du flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées ou non par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* a été évalué en comparaison aux plantes témoins inoculées et traitées ou non par le pesticide de référence « Systemil 72WP » (Fig. 39).



**Figure 39 :** Effet de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations sur le flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre

L'application de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations avant l'inoculation avec *Dickeya dadantii* a induit une réduction de l'incidence de la maladie par rapport au traitement par le pesticide Systemil 72WP. Cette réduction a été considérable à partir du quatrième jour de l'inoculation. La protection vis-à-vis du flétrissement des branches chez les plantes de pomme de terre a atteint environ 70 % chez les plantes prétraitées avec l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*, contrairement à celle induite chez les plantes témoins traitées par le pesticide de référence et qui atteint environ 10 % (Fig. 39).

#### 2.1.1.4. Incidence de brunissement des vaisseaux

L'incidence du brunissement des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées ou non par les différents extraits aqueux d'algues brunes et rouges a été également évaluée en comparaison aux plantes témoins inoculée et traitées par un pesticide de référence (Fig. 40, 41).

##### a. Algues brunes

Le brunissement vasculaire a été évalué sur chaque plante selon une méthode modifiée d'Erwin et *al.* (1976), le brunissement a été noté (yi) pour chaque entre nœuds en fonction de l'échelle :

(0) : Aucune décoloration,

- (1) : Quelque zone de brunissement localisé,
- (2) : Brunissement des vaisseaux le long des entre nœuds,
- (3) : Noircissement des vaisseaux le long des entre nœuds,
- (4) : Noircissement totale des vaisseaux et extension aux tissus adjacents.

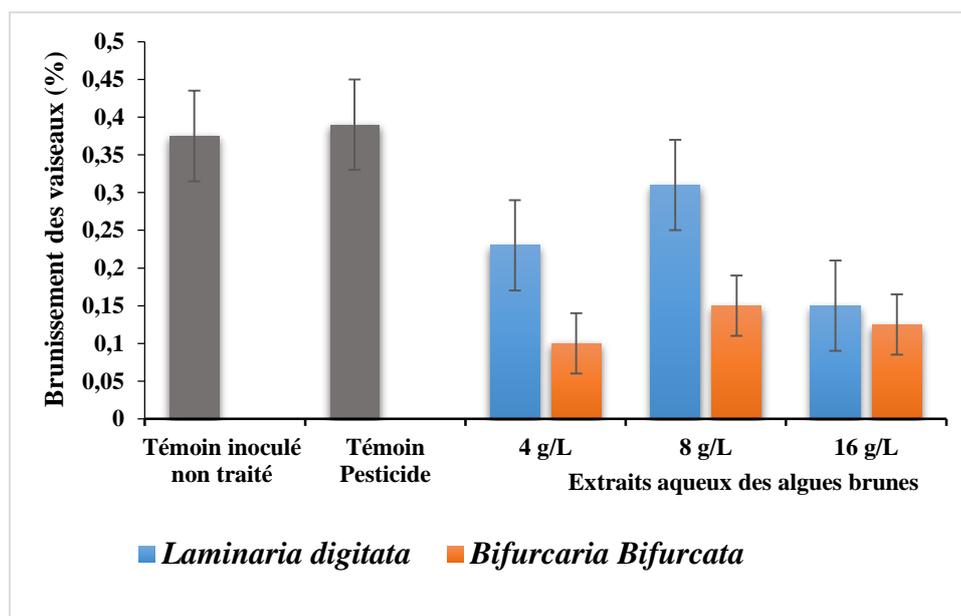
L'indice de brunissement (IBr) a été ensuite calculé pour chaque plante

$$\text{IBr (\%)} = (100 \times y_i) / (4d)$$

**d** : Nombre total des entre nœuds

**4** : La valeur maximale affectée à un entre nœud

**Y<sub>i</sub>** : Les notes affectées aux entre nœuds

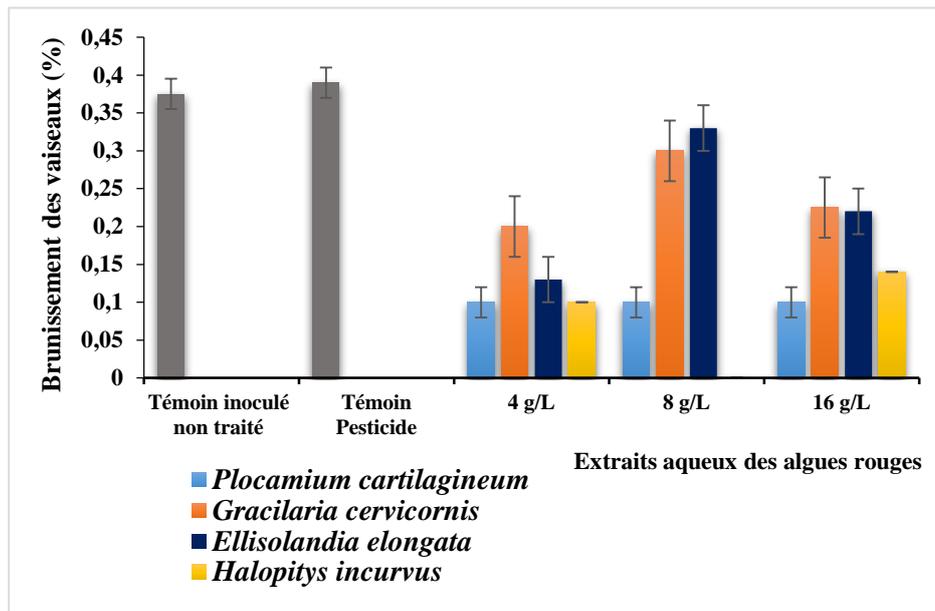


**Figure 40** : Effet des extraits aqueux de deux algues brunes à différentes concentrations sur le brunissement vasculaire des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre

L'indice de brunissement des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* a été considérablement réduit chez les plantes prétraitées par les extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations.

L'indice de brunissement vasculaire des vaisseaux était inhibé à environ 80 % chez les plantes prétraitées avec les extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* et de *Laminaria digitata*. La gravité de la maladie a été réduite chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par 4 g/L de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* et par 16 g/L de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* en comparaison avec les plantes témoins inoculées et traitées ou non par un pesticide de référence (Fig. 40).

## b. Algues rouges



**Figure 41** : Effet des extraits aqueux de quatre algues rouges à différentes concentrations sur le brunissement vasculaire des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre

De même, le développement de l'indice de brunissement vasculaire des vaisseaux chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues rouge et en comparaison avec des plantes inoculées et traitées ou non avec un pesticide de référence a été enregistré.

L'application de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* sur les plantes infectées a permis de réduire l'incidence du brunissement vasculaire à environ 80 %, les mêmes résultats sont observés lors de l'utilisation de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à 4 g/L et à 16 g/L, alors que à 8 g/L on observe une inhibition totale du brunissement vasculaire.

Pour les extraits aqueux de *Gracilaria cervicornis* et de *Ellisolandia elongata* aucune différence considérable n'a été observée puisque la réduction de la maladie atteint un pourcentage d'environ 20-40 % chez les plantes prétraitées par 8 g/L et 16 g/L, respectivement.

Par contre, les plantes prétraitées par 4 g/L de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* et de *Ellisolandia elongata* montrent une réduction d'environ 50-70 % en comparaison avec les plantes témoins inoculées par *Dickeya dadantii* et traitées par un pesticide de référence (Fig. 41).

**2.1.1.5. Discussion**

Les plantes inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par les extraits aqueux d'algues brunes et rouges ont montré une réduction considérable de la gravité de la maladie représentée par les différents symptômes. Le pourcentage de protection vis-à-vis de la pourriture molle était d'environ 90 % par rapport aux plantes inoculées et traitées par un pesticide de référence. Cette réduction était considérablement supérieure chez les plantes de pomme de terre prétraitées par une faible concentration des différents extraits aqueux.

Pour les algues rouges, la protection obtenue par l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* était considérablement supérieure à celle induite par les autres extraits d'algues. Le pourcentage de protection était d'environ 85 % (Fig. 27, 33, 39 et 41), alors qu'il était réduit à 80 % chez les plantes prétraitées avec des extraits aqueux de *Halopitys incurvus* (Fig. 22, 28, 34 et 41) et de *Plocamium cartilagineum* (Fig. 25, 31, 37 et 41), la gravité de la maladie a été réduite à 60 % chez les plantes prétraitées avec des extraits aqueux de *Gracilaria cervicornis* (Fig. 24, 30, 36 et 41).

De même, les extraits aqueux d'algues brunes offrent une protection contre la pourriture molle qui atteint 87 % chez les plantes prétraitées par les extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* (Fig. 26, 32, 38 et 40), alors qu'elle est seulement de 57 % chez les plantes prétraitées par les extraits aqueux de *Laminaria digitata* (Fig. 23, 29, 35 et 40).

La résistance à l'infection par un agent pathogène peut être induite chez les plantes par une large gamme d'agents biotiques et abiotiques (Walters et *al.*, 2013). L'application externe des substances élicitrices sur une plante, contribue à stimuler ses mécanismes de défense (Walters et Fountaine, 2009 ; Wu et Baldwin, 2010). Certains éliciteurs agissent comme le vaccin qui stimule le système immunitaire chez les humains ou les animaux. Ces éliciteurs ont essentiellement une action préventive. Pour certaines maladies, l'intérêt de l'élicitation juste après le début de l'infection peut être efficace pour protéger les plantes contre les attaques d'agents pathogènes.

Les algues ont longtemps été étudiées pour leurs diverses applications agricoles, comme fertilisants des sols ou comme améliorateurs de germination et de rendement (Demir et *al.*, 2006). En raison de leurs fortes teneurs en polysaccharides, les algues marines agissent en tant qu'éliciteurs des réponses de défense chez les plantes, conduisant ainsi à la résistance aux pathogènes microbiens. Elles sont également impliquées dans les processus de signalisation

précoce tels que l'activation des voies métaboliques secondaires et la mobilisation des molécules du signal (Paulert et *al.*, 2009, Sharma et *al.*, 2013).

Les résultats obtenus dans cette partie sont en accord avec ceux décrits en littérature. Il est rapporté que les polysaccharides ainsi que les oligosaccharides purifiés à partir d'algues ont la capacité de déclencher des réponses de défense chez les plantes (Bi et *al.*, 2011). Bien que le mode d'action des extraits d'algues ne soit pas entièrement compris, les effets observés suite à l'application de ces produits proviennent essentiellement de phytohormones et de polysaccharides. Les phytohormones présentes en petites quantités (principalement les cytokinines) agiraient sur le développement des organes, tandis que les polysaccharides sont impliqués dans la stimulation des réactions de la défense naturelle des plantes : éliciteurs (Jolivet et *al.*, 1991 ; Du Jardin, 2015).

La structure et la composition des polysaccharides d'algues comme les laminarines, les carraghénanes et l'ulvan ont fortement contribué à l'activation des voies de signalisation et à l'amélioration des mécanismes de défense chez diverses espèces végétales (Klarzynski et *al.*, 2000 ; Mercier et *al.*, 2001 ; El Modafar et *al.*, 2012 ; Abouraïcha et *al.*, 2015 ; de Freitas et *al.*, 2015).

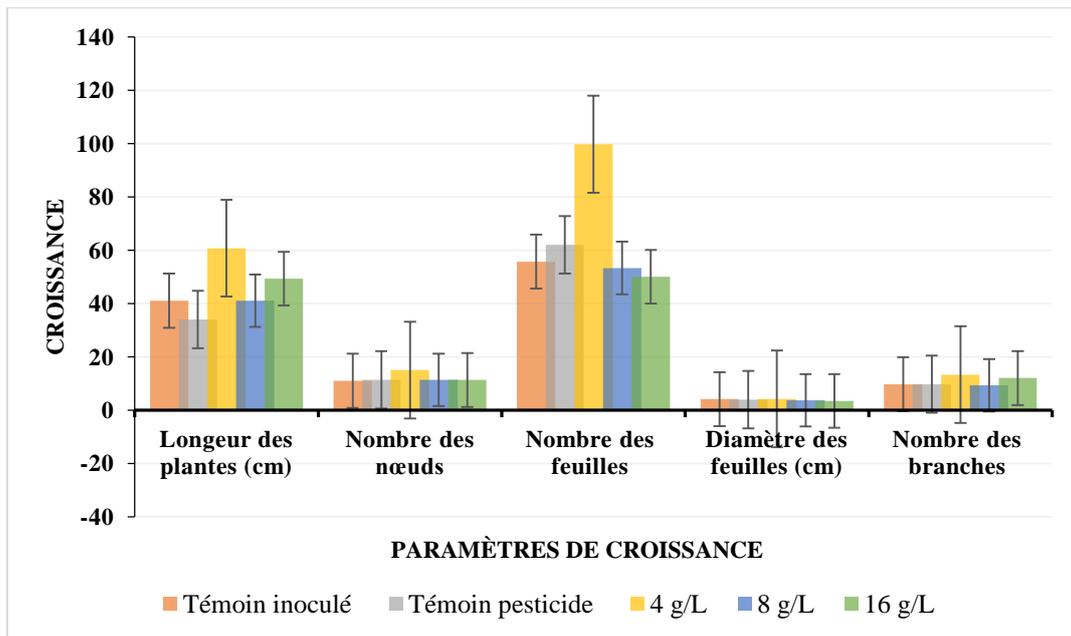
Ces données ont été confirmées par Montealegre et *al.* (2010), où ils ont signalé, pour la première fois, l'efficacité des polysaccharides d'algues vertes pour réduire la désintégration des moisissures grises chez les pommes après la récolte. Ainsi, Mercier et *al.* (2001) ont pu montrer que le carraghénane (polysaccharides des parois cellulaires de diverses algues rouges) avait le même effet que l'éliciteur connu de *Phytophthora parasitica* var. *Nicotianae* sur les plantes de tabac. La laminarine ( $\beta$ -1,3-glucane) s'est révélée être un éliciteur qui accroît la protection des feuilles de tabac contre la bactérie pathogène *Erwinia carotovora* (Klarzynski et *al.*, 2000). Aziz et *al.* (2003) ont également pu mettre en évidence la fonction d'élicitation de cette réserve de polysaccharide dans l'induction de la protection contre les agents pathogènes en particulier *Botrytis cinerea* et *Plasmopara viticola*. Les traitements des pommes avec ces bioéliciteurs isolés à partir d'algues vertes ont réduit de manière significative l'incidence de la maladie causée par *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea* (Abouraïcha et *al.*, 2015). Plus que cette fonction d'élicitation, les extraits d'algues pourraient devenir un allié important dans la protection des cultures, dans un contexte croissant de préoccupations environnementales.

### 2.1.2. Effet des extraits d'algues sur la croissance des plantes de pomme de terre

La connaissance de l'évolution des teneurs des éléments minéraux et des paramètres de croissance chez les plantes prétraitées par les extraits d'algues marines est d'une grande importance et permet d'évaluer l'apport des extraits d'algues en éléments minéraux d'une part et d'apprécier l'absorption de ces éléments par la plante d'autre part. Ainsi dans le but d'évaluer la croissance de la plante, nous avons utilisé plusieurs critères à savoir : la longueur des plantes (cm), le nombre des branches, le diamètre des feuilles (cm), le nombre des feuilles et le nombre des nœuds.

#### a. *Halopitys incurvus*

L'application de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à 4 g/L favorise considérablement la croissance des plantes de pomme de terre en comparaison avec les plantes témoins non traitées.



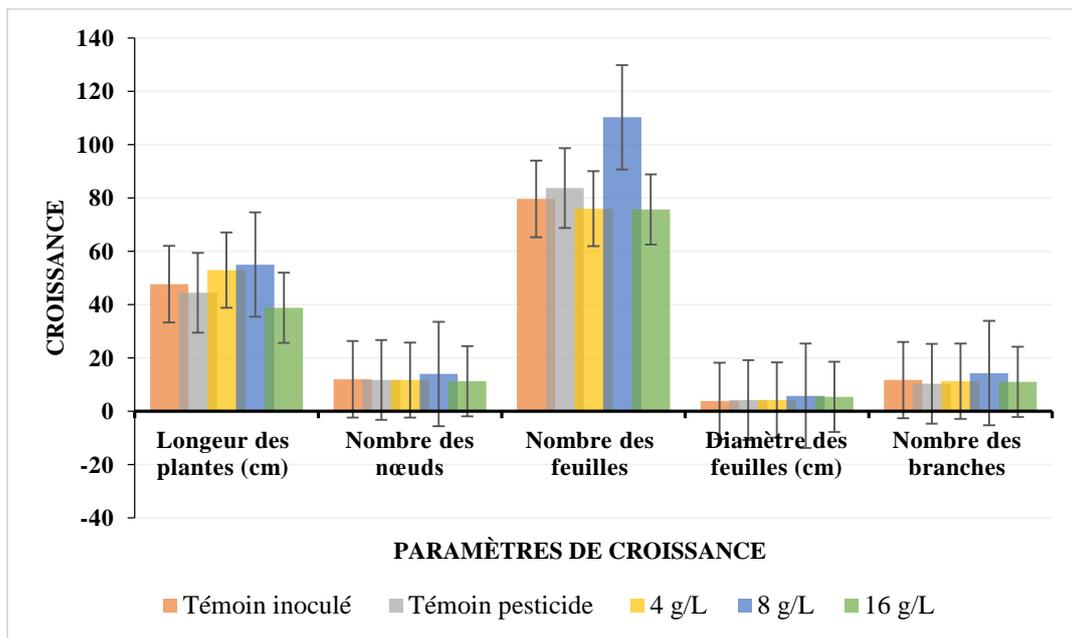
**Figure 42 :** Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*

Tout au long de notre expérience, une différence morphologique a été observée entre les plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations et les plantes non traitées.

Une augmentation d'environ 10 à 25 % de la longueur de la tige et de nombre des feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à été observée comparativement aux plantes témoins, cette augmentation est observée chez les plantes prétraitées par une faible concentration de l'extrait utilisé (Fig. 42).

**b. *Laminaria digitata***

Une amélioration de la croissance des plantes de pomme de terre à été observée après leurs prétraitements par l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations.



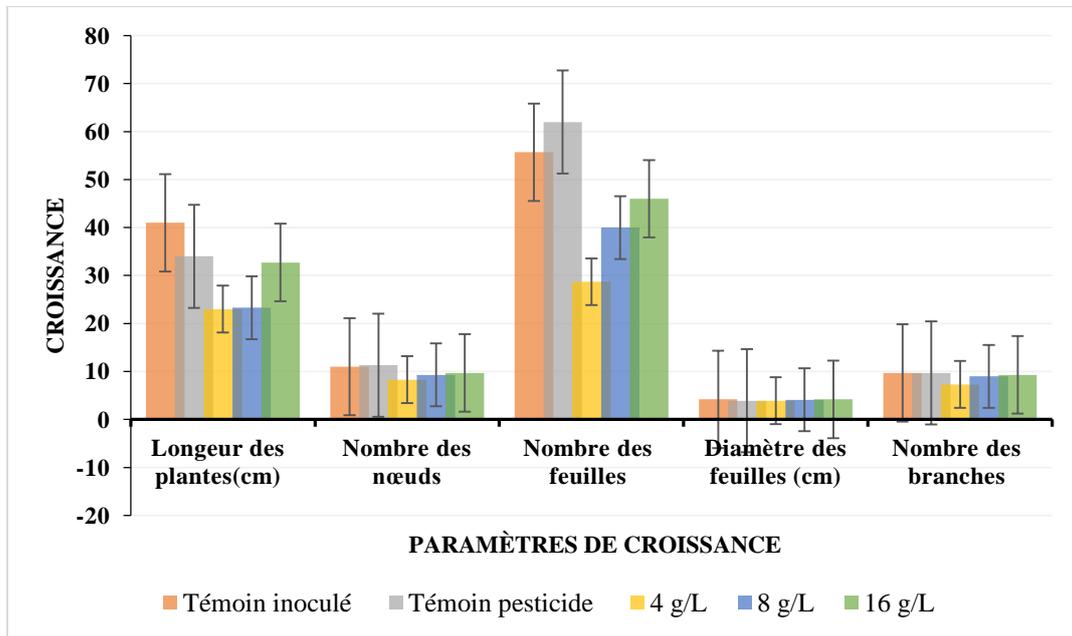
**Figure 43 :** Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*

L'application de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à 8 g/L sur les plantes de pomme de terre a montré un effet considérable sur l'augmentation des différents paramètres de croissance par rapport aux plantes témoins non traitées et spécifiquement le nombre des feuilles et la longueur de la tige. Le taux d'augmentation était d'environ 20 %, cette amélioration est probablement due à la disponibilité des nutriments chez l'extrait aqueux d'algue appliqué (Fig. 43).

**c. *Gracilaria cervicornis***

L'évaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* est d'une grande importance, permettant ainsi

d'évaluer l'apport en éléments minéraux essentiels pour la croissance des plantes de pomme de terre.

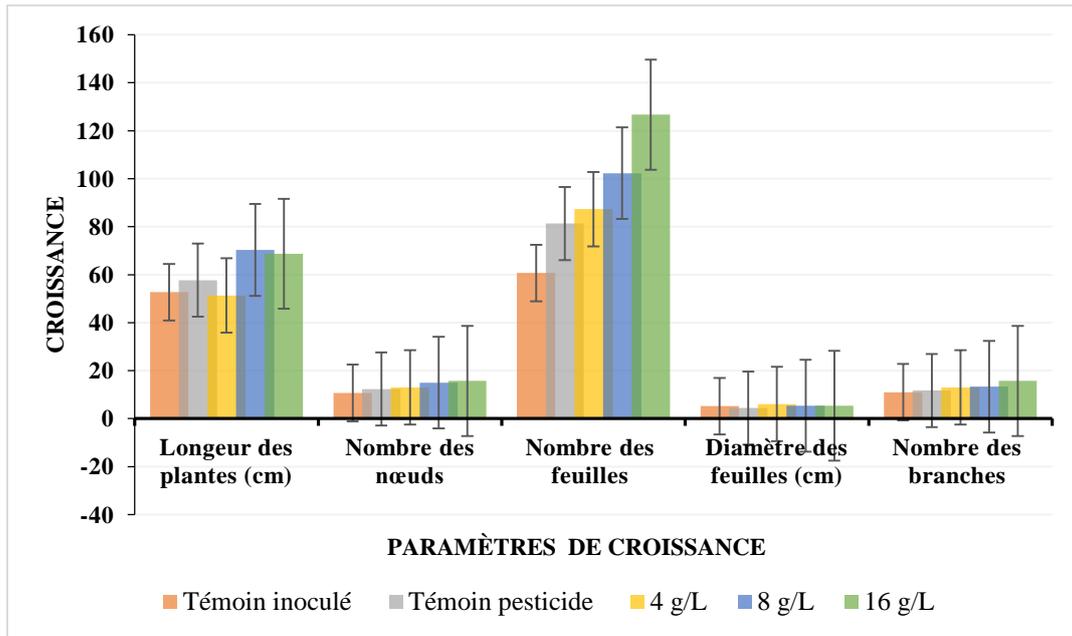


**Figure 44 :** Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*

L'application de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre ne présente aucun effet positif sur la variation des paramètres de croissance des plantes en comparaison avec les plantes témoins non traitées, ce qui peut être dû aux faibles teneurs en éléments minéraux présentes dans l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* (Fig. 44).

#### **d. *Plocamium cartilagineum***

Une variation des paramètres de croissance des plantes prétraitées par l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à été observée à la fin de l'expérience, cette variation est considérablement supérieure à celle des plantes témoins.

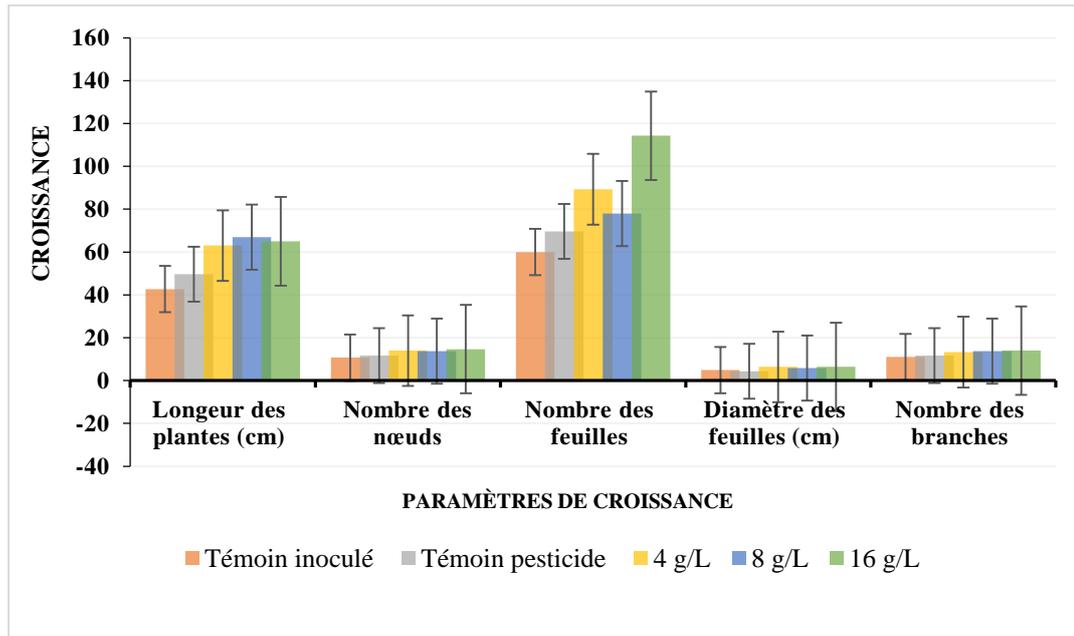


**Figure 45 :** Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*

De même, une augmentation progressive d'environ 50 % de nombre de feuilles et d'environ 20 % de la longueur de tige des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* comparativement aux plantes témoins non traitées a été constatée à l'issue de notre expérience, ce qui témoigne de l'effet bénéfique de l'extrait d'algue appliqué. Cette variation augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*. Par contre une augmentation moins importante a été observée pour les autres paramètres de croissance étudiés (Fig. 45).

#### ***e. Bifurcaria bifurcata***

L'application de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* par pulvérisation favorise considérablement la croissance des plantes de pomme de terre, ce qui témoigne de son richesse en éléments minéraux essentiels pour la croissance des plantes.



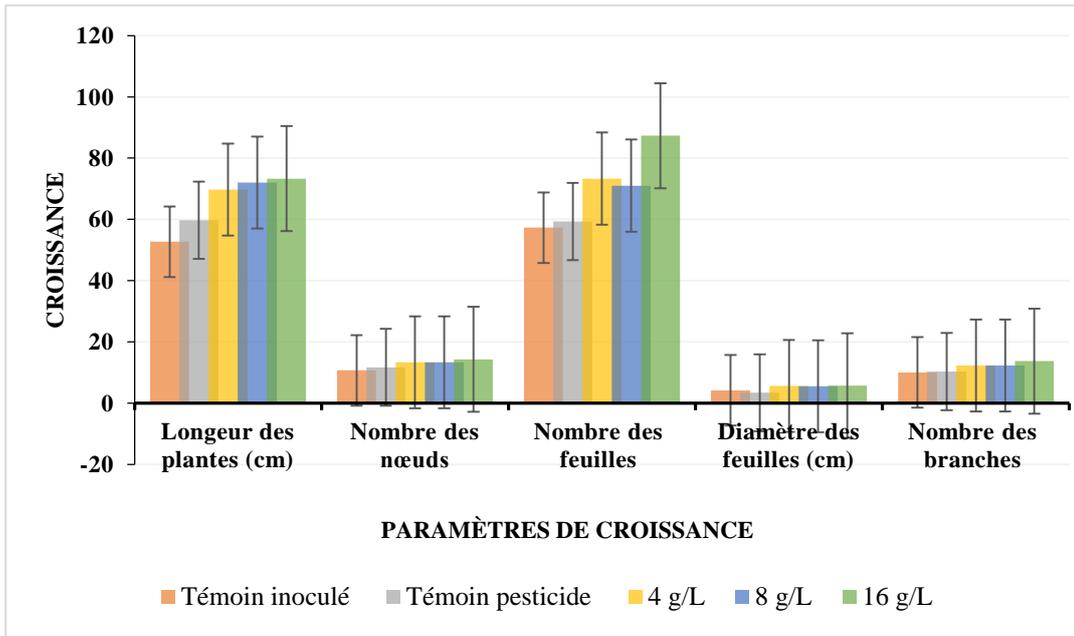
**Figure 46 :** Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*

La figure ci-dessus (Fig. 46) illustre la variation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations.

Une augmentation considérable d'environ 30 % de la longueur de la tige et du nombre des feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* a été constatée à l'issue de notre expérience comparativement aux plantes témoins non traitées, ce qui témoigne de l'effet bénéfique de l'extrait d'algue. La variation des différents paramètres de croissance augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. En effet, ce dernier est connu par sa capacité de stimuler la croissance des plantes en raison de ses fortes teneurs en régulateurs de croissance, tel que les auxines et les cytokinines (Stirk et al., 2014). Par contre, une augmentation moins importante a été observée pour les autres paramètres de croissance (nombre des nœuds, nombre des branches, diamètre des feuilles) (Fig. 46).

#### **f. *Ellisolandia elongata***

Une stimulation considérable de la croissance des plantes de pomme de terre a été observée lors de l'application de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations sur les plantes cultivées.



**Figure 47 :** Evaluation des paramètres de croissance chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*

La variation des paramètres de croissance des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* a été également enregistrée à la fin de l'expérience.

Les résultats obtenus montrent une augmentation d'environ 10 % de la longueur de la tige et de nombre des feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* en comparaison avec les plantes non traitées. Par contre une faible augmentation a été observée pour le nombre des nœuds, le diamètre des feuilles et le nombre des branches. Cette variation augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait appliqué (Fig. 47).

### g. Discussion

L'application des extraits aqueux d'algues à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre agissent comme des biostimulants. Ces extraits améliorent les différents paramètres de croissance tels que la longueur des plantes et le nombre des feuilles en comparaison avec des plantes témoins et en fonction de différentes espèces d'algues. La variation des différents paramètres de croissance augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait d'algue appliqué. Cette amélioration est principalement due à la présence d'hormones et de régulateurs de croissance, particulièrement les cytokinines, les gibbérellines et les auxines. Ces extraits contiennent aussi des acides aminés et des acides gras responsables de la croissance de la plante et de son développement. Plusieurs recherches ont

montré que les extraits d'algues présentent un effet positif sur les plantes, ils augmentent le rendement des cultures par une meilleure absorption des nutriments du sol.

Les extraits d'algues sont l'un des composés bio-stimulants utilisés en tant que conditionneur de sol pour améliorer la croissance des plantes (Hurtado et *al.*, 2009). Initialement employées entières, sous forme d'amendement organique, les algues sont actuellement de plus en plus utilisées sous forme d'extraits liquides. Divers effets phytoactifs de l'application des extraits d'algues marines sur les plantes cultivées ont cependant pu être mis en évidence (Jolivet et *al.*, 1991).

De nombreux effets bénéfiques y sont rapportés, tel que l'amélioration du taux de germination, l'augmentation des rendements, l'intensification de l'absorption des éléments minéraux du sol, l'amélioration de la disponibilité des nutriments, la productivité ou encore la durée de conservation des fruits. Les éléments minéraux et les acides aminés, revêtent aussi une importance pour la nutrition des plantes. En effet, la richesse de ces organismes en oligo-éléments et en vitamines suscite un intérêt important chez les plantes cultivées (Bruneton, 1993 ; Norrie et Keathley, 2006 ; Eyraas et *al.*, 2008).

**Tableau 15 :** Caractérisation chimique des plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues rouges et brunes

		Sucres µg.L <sup>-1</sup>	Protéines µg.L <sup>-1</sup>	Azote %	Nitrate mg.L <sup>-1</sup>	Phosphore mg.L <sup>-1</sup>	Chlorophylles mg.L <sup>-1</sup>
<b>Témoin</b>		30,1±0,003	4,3±0,002	9,6±0,006	9,2±0,001	40,2±0,004	2,1±0,4
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	<b>4 g/L</b>	41,3±0,001	6,01±0,004	36±0,11	8,3±0,006	37,17±0,004	4,3±0,1
	<b>8 g/L</b>	68,2±0,003	6,8±0,002	26,4±0,006	8,9±0,002	27,31±0,003	5,3±0,5
	<b>16 g/L</b>	33,6±0,001	7,7±0,002	36±0,11	10,2±0,002	37,38±0,003	2,8±0,4
<i>Ellisolandia elongata</i>	<b>4 g/L</b>	90,4±0,001	6,5±0,004	33,6±0,006	9,3±0,004	47,5±0,007	2,3±0,1
	<b>8 g/L</b>	27,5±0,007	4,8±0,002	28,8±0,11	5,4±0,004	106,4±0,006	1,7±0,3
	<b>16 g/L</b>	51,8±0,002	4,7±0,001	12±0,13	6,7±0,002	56,2±0,007	2,7±0,2
<i>Laminaria digitata</i>	<b>4 g/L</b>	39±0,003	6,1±0,001	14,4±0,11	7,6±0,003	56,2±0,007	1,1±0,1
	<b>8 g/L</b>	75,8±0,001	5,4±0,001	21,6±0,11	6,5±0,004	54,5±0,001	1,6±0,1
	<b>16 g/L</b>	121,5±0,001	6,9±0,006	16,8±0,006	8,9±0,001	29,5±0,002	1,5±0,2
<i>Plocanium cartilagineum</i>	<b>4 g/L</b>	30,3±0,006	6,8±0,001	26,4±0,13	7,8±0,003	50,3±0,001	2,4±0,2
	<b>8 g/L</b>	24,1±0,001	6,5±0,002	14,4±0,11	7,4±0,003	55±0,005	3,2±0,6
	<b>16 g/L</b>	20,4±0,003	5,8±0,002	38,4±0,006	9,1±0,003	75,3±0,007	3,3±0,1
<i>Gracilaria cervicornis</i>	<b>4 g/L</b>	40,9±0,04	5±0,001	12±0,006	8,4±0,005	74,6±0,007	1,9±0,3
	<b>8 g/L</b>	153,7±0,002	6,3±0,002	12±0,006	8,4±0,004	34,1±0,001	3,6±0,1
	<b>16 g/L</b>	46,4±0,01	4,6±0,006	9,6±0,006	7,1±0,002	88,2±0,007	1,9±0,5
<i>Halopiys incurvus</i>	<b>4 g/L</b>	21,8±0,002	4,9±0,003	24±0,006	7,9±0,002	38,7±0,007	2,8±0,1
	<b>8 g/L</b>	26,6±0,001	6,5±0,006	38,4±0,006	7,8±0,003	41,9±0,002	3,4±0,2
	<b>16 g/L</b>	84,8±0,001	5,4±0,002	12±0,13	8,7±0,002	100,5±0,06	2,1±0,4

D'après le tableau 15 au-dessus, on constate que les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues marines montrent une amélioration considérable des caractéristiques de rendement et des différents composants de la

plante en comparaison aux plantes témoins. Ce qui explique l'amélioration du rendement et de la productivité des plantes de pomme de terre.

Les plantes prétraitées avec différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues ont montré une croissance, un rendement, des teneurs en minéraux et des constituants biochimiques plus élevés. L'amélioration de la croissance est donc due à la présence de certains constituants dans l'extrait aqueux favorisant la croissance des plantes de pomme de terre (Tableau 15).

Ces résultats sont en accord avec l'étude menée par Sarhan et *al.* (2011) et qui montre que les traitements par des extraits d'algues ont entraîné une augmentation significative de tous les paramètres de croissance végétative et des caractéristiques de rendement de la pomme de terre et de nombreuses autres cultures (Norrie et Keathley, 2006). De plus, Jensen (2004) a rapporté que les extraits d'algues contiennent divers microéléments (Cu, Zn, Mo, B, Co) en plus des macroéléments. Ils contiennent des Auxines, des Gibbérellines et des Cytokinines, qui lorsqu'ils sont pulvérisés sur les plantes, ils provoquent une augmentation de la capacité de croissance des racines, de l'absorption des éléments nutritifs et de la croissance de la tige de manière significative. Eris et *al.* (2008) ont montré que l'extrait alcalin de *Ascophyllum nodosum* lors de sa pulvérisation sur les plantes de poivre conduit à une augmentation significative de la croissance, du rendement et de la concentration de certains éléments nutritifs.

La variation de la teneur en chlorophylle observée chez les plantes de pomme de terre prétraitées par les différentes concentrations d'extraits d'algues confirme les résultats de Bozorgi (2012) et Ramarajan et *al.* (2013) qui mentionnent que l'application des extraits d'algues sur la plante d'haricot sous forme de pulvérisation foliaire ou incorporés dans le milieu de culture augmente la pigmentation des feuilles et des tiges notamment la chlorophylle a. Aussi, l'application d'extraits d'algues sur l'aubergine augmente significativement la teneur en chlorophylle dans deux niveaux de stress salin (Amira et *al.*, 2014).

Ainsi, l'augmentation des teneurs en sucre s'explique par la dominance des sucres simples qui sont fréquemment des polyols : D-mannitol et le D-sorbitol. Il s'agit souvent de composés osmo-compatibles pour les cellules, résultant d'une adaptation au milieu. Le mannitol a également des propriétés chélatantes exploitables pour la nutrition minérale des plantes (Babaousmail, 2014).

De même, la variation des teneurs en Azote, Phosphore et Nitrate s'explique par l'importance que revêtent les éléments minéraux et acides aminés pour la nutrition des plantes (dans le cas d'amendements organiques). En effet, la richesse des extraits d'algues marines en oligo-éléments et en vitamines suscite un intérêt grandissant (Khan et *al.*, 2009, 2011).

**2.1.3. Effet des extraits d'algues sur l'activation des enzymes de défense chez les plantes de pomme de terre**

Bien que le mode d'action des extraits d'algues ne soit pas entièrement élucidé, les effets observés suite à l'application de ces produits proviendraient essentiellement des phytohormones et des polysaccharides. Les phytohormones présentes en faibles quantités (principalement les cytokinines) agiraient au niveau du développement des organes, tandis que les polysaccharides seraient impliqués dans la stimulation des réactions de défenses naturelles des plantes (éliciteurs).

Le déclenchement du mécanisme de défense s'accompagne de la modification des parois par la synthèse de callose, de polyphénols, de protéines, de substances pectiques, de suber, de silice, de calcium et / ou de lignine et de la production de phytoalexines qui est un puissant inhibiteur à l'égard d'une large gamme de microorganismes. La relation d'incompatibilité entre l'hôte et l'agent pathogène est généralement associée à une synthèse rapide des phytoalexines.

Après l'infection par divers agents pathogènes, l'accumulation de nouvelles protéines solubles hautement résistantes est observée, appelée protéines PR (liées à la pathogénèse). Ces protéines sont censées interagir directement avec des composants structurels ou des enzymes impliquées dans la pathogénicité de l'agresseur. Pendant le contact entre le récepteur de la plante hôte et l'éliciteur, il déclenche également une production d'oxygène actif ( $H_2O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^\cdot$ ), ce processus s'appelle "choc respiratoire". Cette synthèse provoque une peroxydation des lipides membranaires provoquant un flux transitoire d'électrolytes (influx  $Ca^{2+}$  et  $K^+$ ) conduisant à l'établissement de mécanismes de défense (Lepoivre, 2003).

Plusieurs études ont révélé les avantages d'extraits d'algues sur les plantes tel-que l'amélioration de la résistance au stress biotique et abiotique (Norrie et Keathley, 2006 ; Eyra et *al.*, 2008).

Les différents mécanismes de résistance établis peuvent être des caractéristiques structurelles agissant comme un obstacle physique à l'avancement des pathogènes ou à la production de substances toxiques. L'activité des différentes enzymes accumulées et impliquées dans la stimulation des réactions de défense avant et après le traitement.

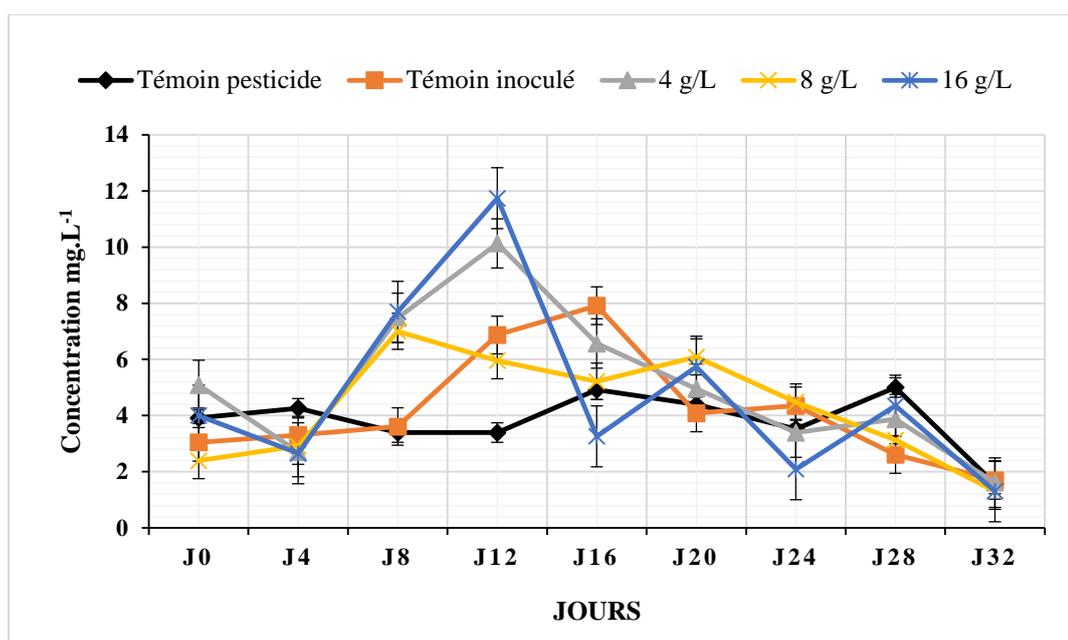
**2.1.3.1. Evaluation de la teneur en composés phénoliques totaux : CPT**

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et tanins) sont les métabolites secondaires omniprésents et les plus représentés dans le règne végétal, ils

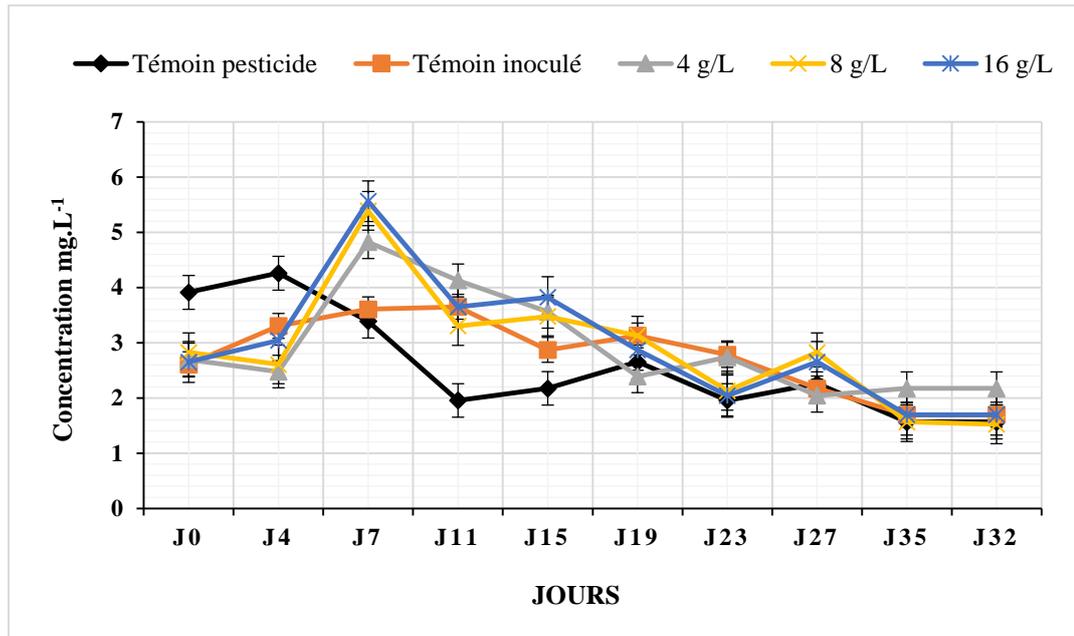
présentent des intérêts considérables en agronomie. Ils jouent un rôle important dans les mécanismes de défense de la plante vis-à-vis des champignons, des bactéries et des prédateurs. En tant que composés de défense, les phénols sont d'avantage sollicités en période de stress biotique et abiotique.

**a. Algues brunes**

La teneur en composés phénoliques chez les plantes de pomme de terre élicitées par les extraits aqueux d'algues brunes a été suivie pendant environ un mois.



**Figure 48 :** Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*.

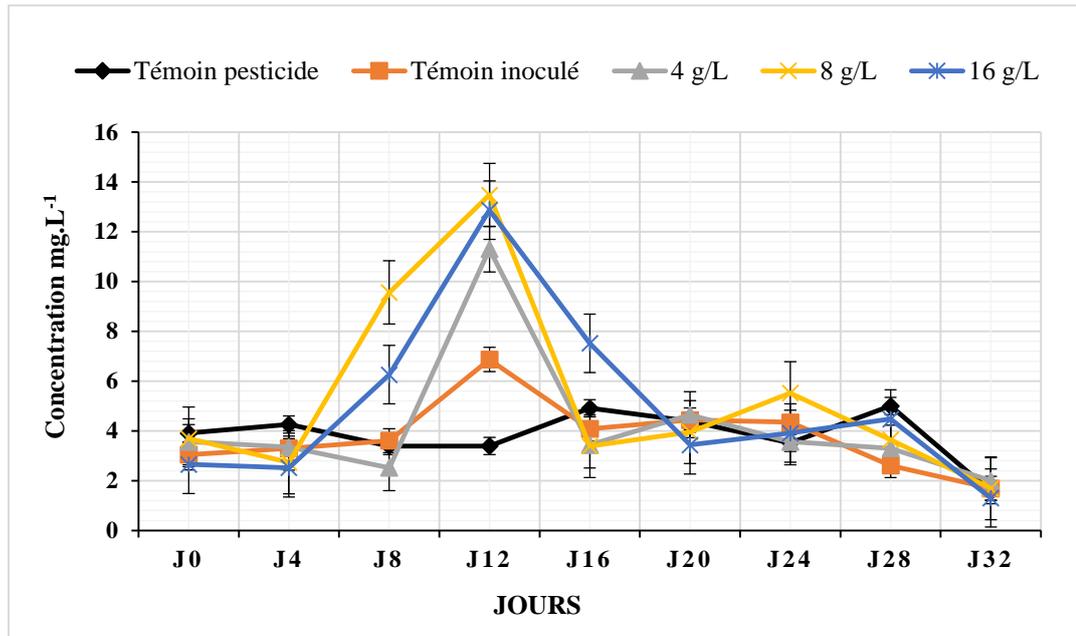


**Figure 49 :** Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*

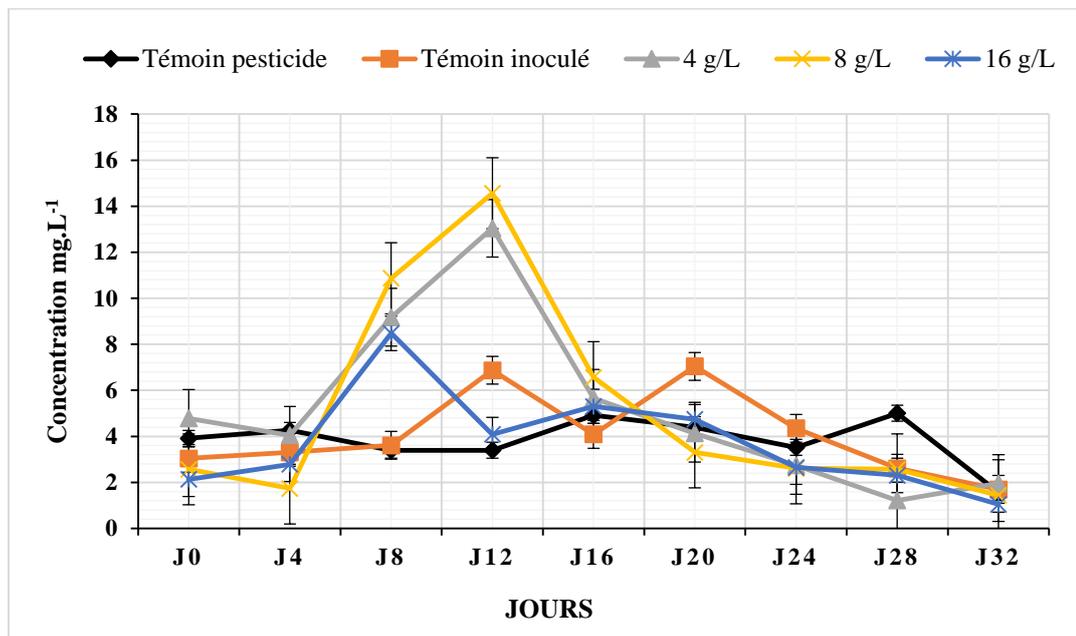
L'application des extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* et de *Laminaria digitata* par pulvérisation sur des plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* conduit à l'activation des composés phénoliques totaux au niveau des feuilles puisqu'ils sont impliqués dans les mécanismes de défense des plantes cultivées. Cette activation s'observe juste après l'inoculation par *Dickeya dadantii* et elle est largement supérieure à celle des plantes traitées par un pesticide de référence. Les teneurs en composés phénoliques totaux (CPT) ont atteint leur maximum chez les plantes de pomme de terre élicitées par 16 g/L d'extraits aqueux d'algues brunes alors qu'elles sont inactives chez les plantes traitées par un pesticide de référence (Fig. 48, 49).

### b. Algues rouges

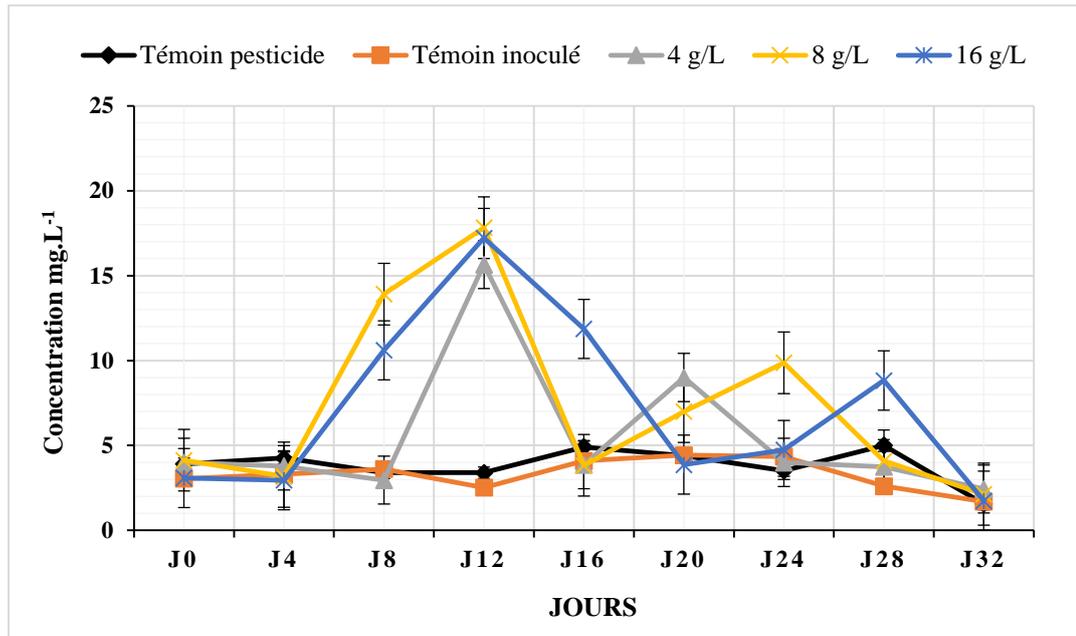
L'application des extraits aqueux d'algues rouges sur des plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* entraîne un enrichissement intense en composés phénoliques juste après l'inoculation.



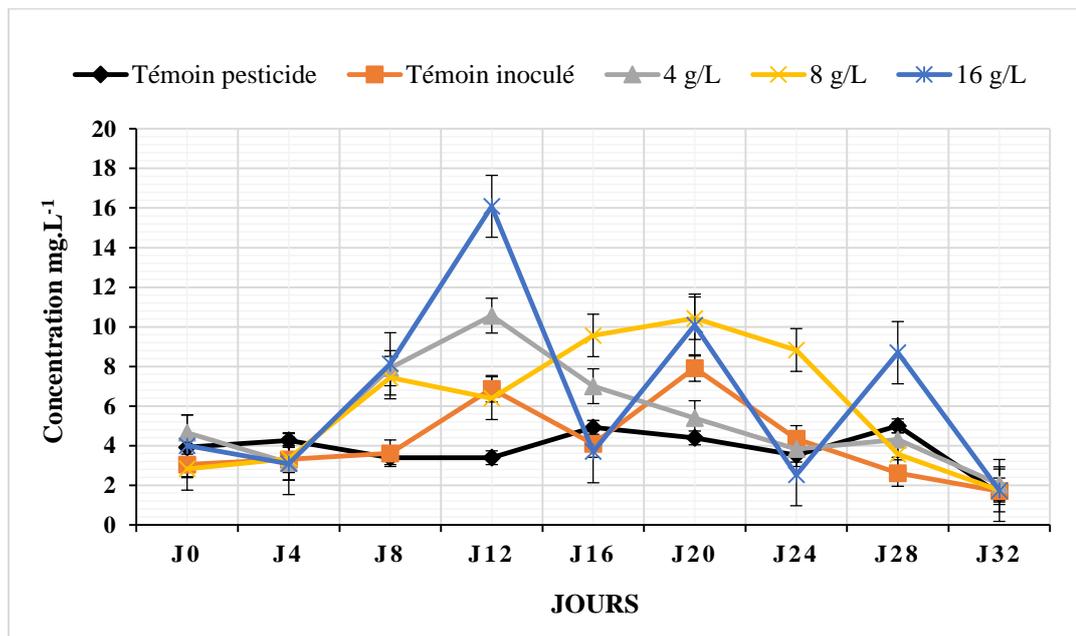
**Figure 50 :** Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*



**Figure 51 :** Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*.



**Figure 52 :** Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*



**Figure 53 :** Evaluation des teneurs en composés phénoliques totaux chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*.

De même, durant les trois premiers jours de notre expérimentation, les teneurs en CPT des plantes ayant été élicitées avec différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues rouges (*Ellisolandia elongata*, *Halopitys incurvus*, *Gracilaria cervicornis*, *Plocamium cartilagineum*)

ne sont pas influencées par rapport aux plantes témoins. Après inoculation avec *Dickeya dadantii*, les teneurs en CPT des feuilles des plantes inoculées subissent une forte augmentation alors que celles des feuilles inoculées et traitées par un pesticide de référence semblent plutôt subir une légère diminution. Une partie des CPT accumulés dans les feuilles inoculées semble être la conséquence des blessures provoquées aux niveaux des racines dans le but d'inoculer les plantes. En effet, les plantes témoins inoculées présentent aussi une augmentation de la teneur en CPT mais de manière moins intense que celle des feuilles issues des plantes prétraitées par les extraits aqueux d'algues rouges. La teneur en CPT des plantes prétraitées par les extraits aqueux d'algues est largement supérieure aux plantes témoins (Fig. 50, 51, 52, 53).

L'enrichissement des feuilles des plantes de pomme de terre en composés phénoliques après inoculation avec *Dickeya dadantii* est en accord avec les données bibliographiques. En effet, plusieurs auteurs (El Modafar et al., 2000) signalent une accumulation des composés phénoliques totaux après infection par des agents pathogènes, cette augmentation des composés phénoliques totaux est due au fait que les micro-organismes pathogènes déclenchent chez les plantes l'expression de gènes de défense conduisant à la mise en place des molécules antibiotiques comme les composés phénoliques.

L'implication de ces derniers dans la défense de la plante n'est plus à démontrer et semble agir soit directement par leurs propriétés toxiques vis-à-vis des agents pathogènes soit de manière indirecte en renforçant les systèmes de défense de la plante.

L'accumulation des composés phénoliques suite à l'infection ne semble pas être la conséquence principale des blessures provoquées pour les besoins de l'expérimentation. En effet, les feuilles des plantes témoins inoculées sans traitement, même si elles présentent un enrichissement en CPT, ce dernier reste beaucoup plus faible que celui noté dans le cas des plantes inoculées et prétraitées par les extraits aqueux d'algues. Il est donc clair que c'est la présence de la bactérie lors de blessures et l'élicitation par les extraits aqueux d'algues qui induisent l'enrichissement en CPT aux niveaux des feuilles des plantes de pomme de terre.

#### **2.1.3.1.1. Evaluation de la teneur en flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues brunes et rouges a été évaluée le long de la période de l'expérimentation.

a. Algues brunes

L'application des extraits aqueux d'algues brunes sur les plantes de pomme de terre favorise leur enrichissement en flavonoïdes et par la suite leur protection contre *Dickeya dadantii*.

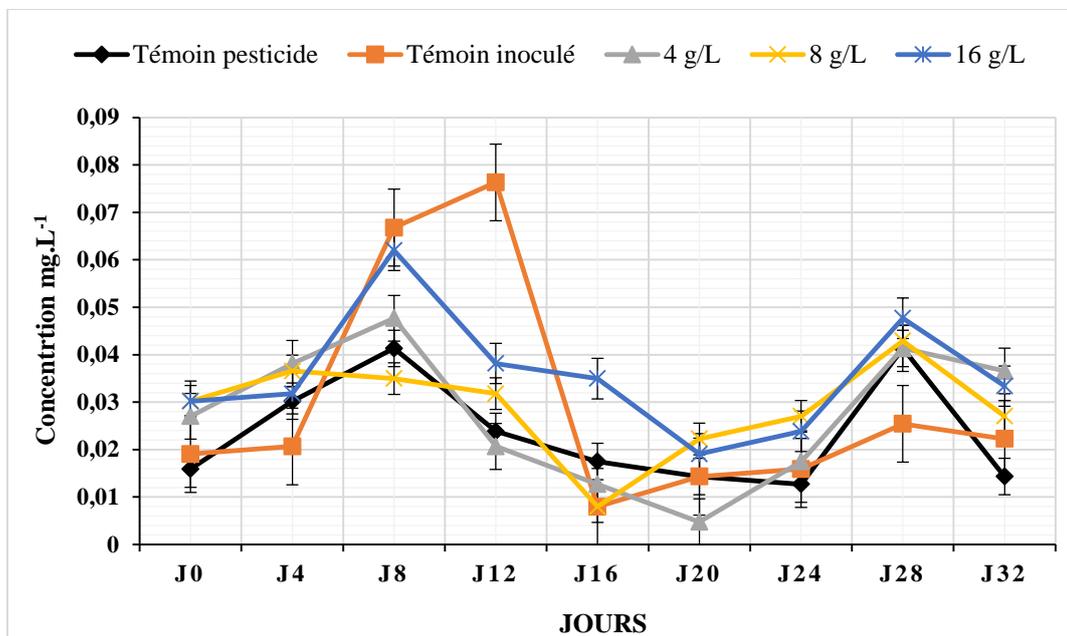


Figure 54 : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*.

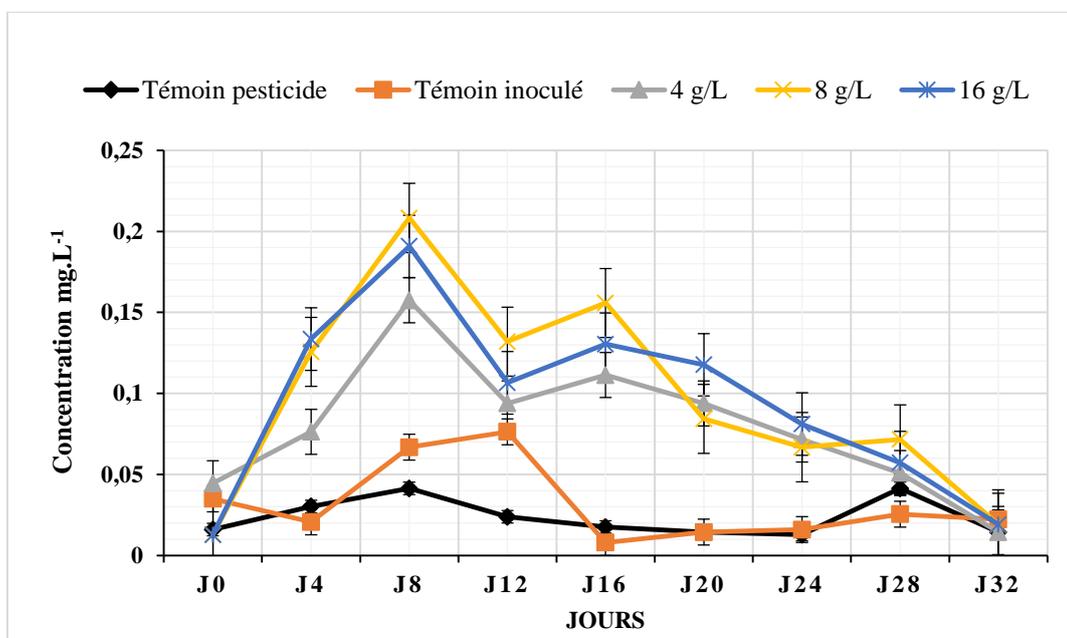


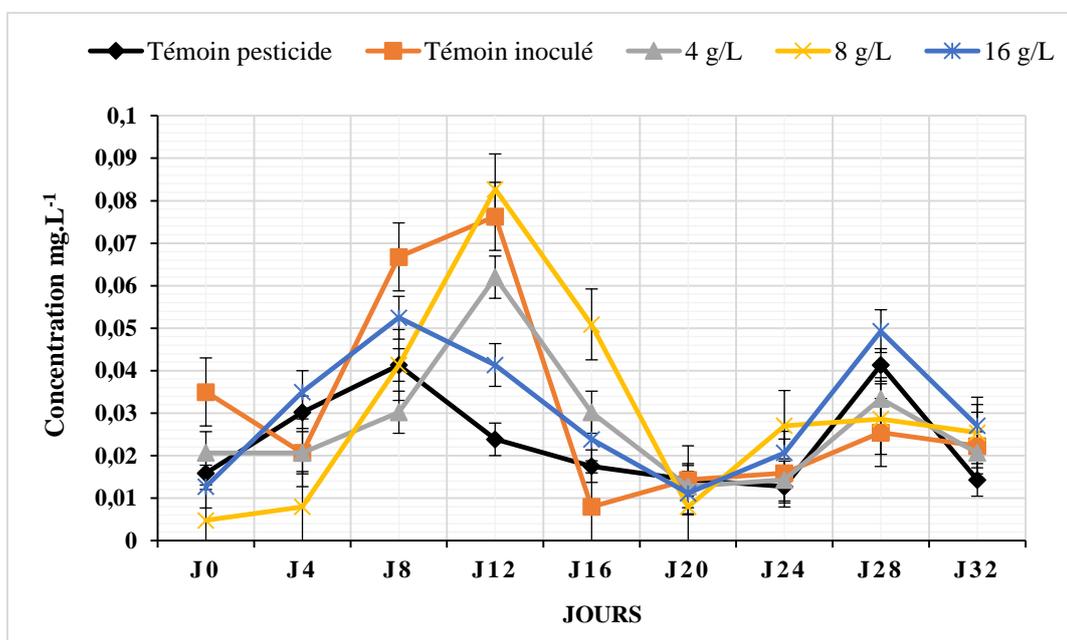
Figure 55 : Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*.

Les plantes de pomme de terre prétraitées par les extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations subissent un enrichissement plus intense en flavonoïdes que les plantes témoins traitées par un pesticide de référence et cela juste après l'inoculation par *Dickeya dadantii*. L'enrichissement est considérablement supérieur chez les plantes prétraitées par 16 g/L d'extrait aqueux et tend à diminuer vers la fin de l'expérimentation. Par contre les plantes témoins traitées par un pesticide de référence ne représentent aucun enrichissement en flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes tend à augmenter aussi juste après l'inoculation et à la fin de l'expérimentation chez les plantes prétraitées par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*. L'enrichissement des plantes de pomme de terre en flavonoïdes est dû à l'implication de ces composés dans les mécanismes de défense des plantes afin d'assurer une bonne protection contre la pourriture molle causée par *Dickeya dadantii* (Fig. 54, 55).

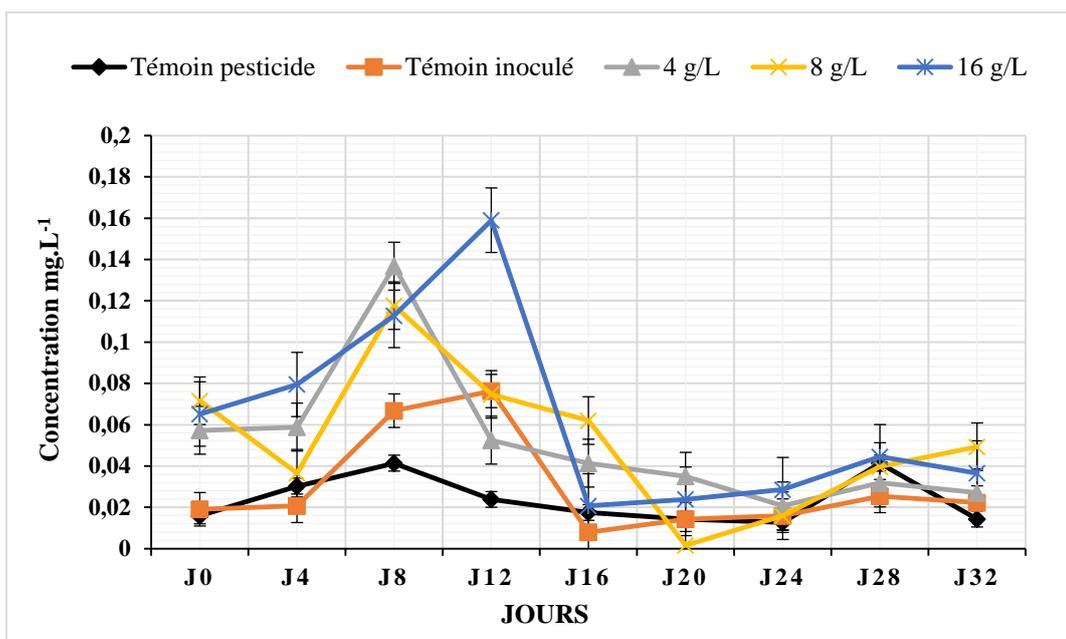
### b. Algues rouges

Les plantes de pomme de terre prétraitées par les extraits aqueux d'algues rouges représentent un enrichissement élevé en flavonoïdes.

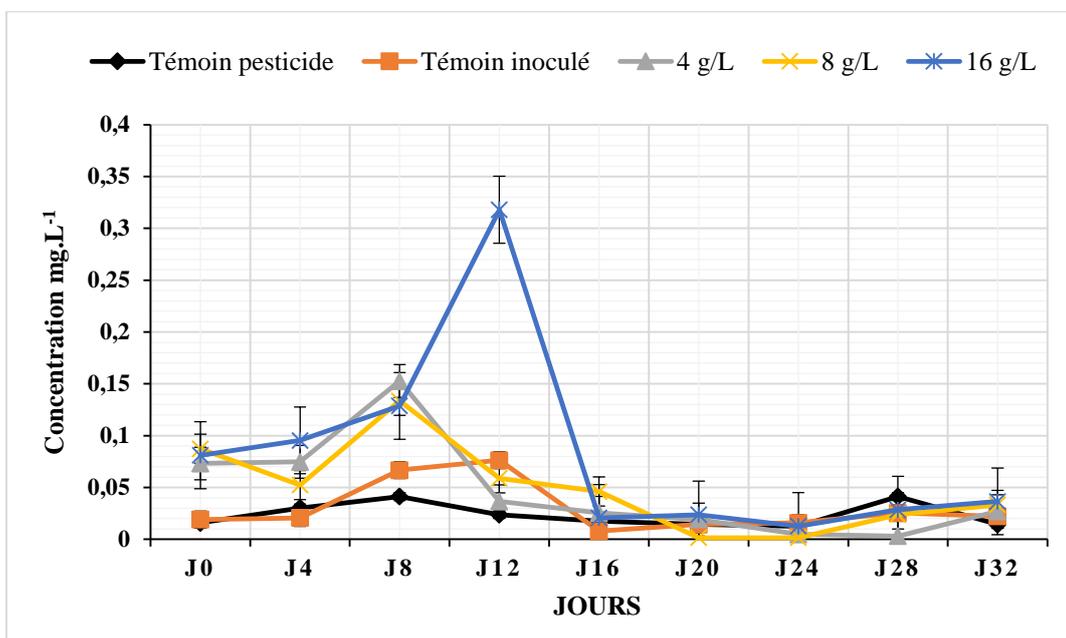


**Figure 56 :** Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*.

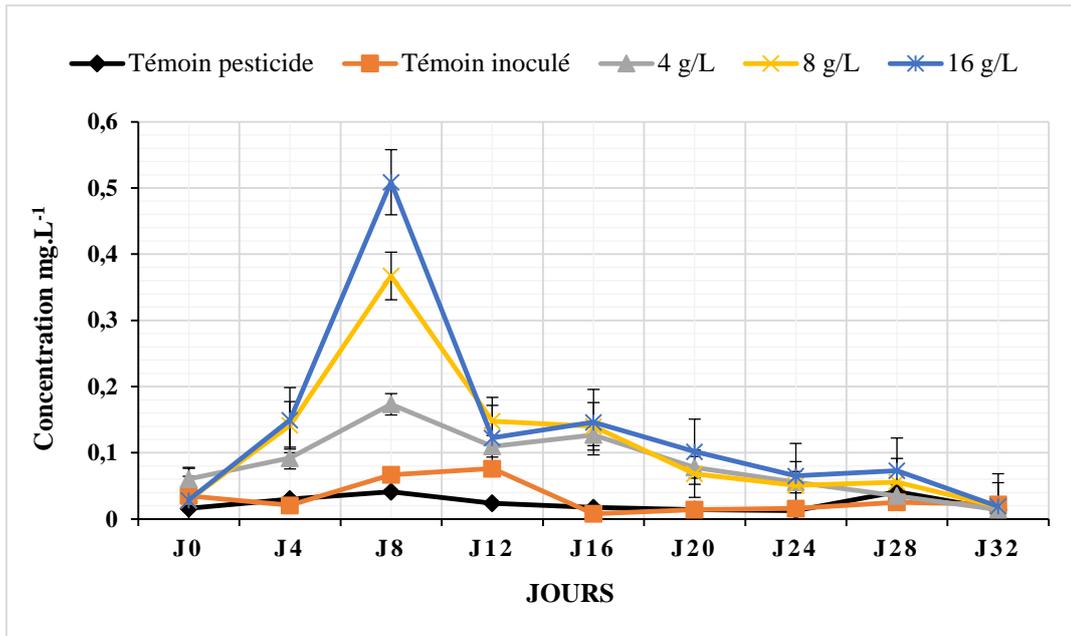
### PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre



**Figure 57 :** Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*



**Figure 58 :** Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*



**Figure 59 :** Evaluation des teneurs en flavonoïdes chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*

Après inoculation, les feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par 8 g/L d'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* représentent un enrichissement en flavonoïdes plus élevé en comparaison avec les plantes témoins traitées par un pesticide de référence. Les plantes élicitées par 4 g/L et 16 g/L d'extraits aqueux de *Ellisolandia elongata* subissent aussi un enrichissement en flavonoïdes juste après l'inoculation par *Dickeya dadantii* et qui tend à augmenter vers le 28<sup>ème</sup> jours de l'expérimentation. La teneur en flavonoïdes tend aussi à augmenter chez les plantes témoins négatif.

Un enrichissement plus intense en flavonoïdes est observé chez les plantes prétraitées par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*, de *Halopitys incurvus* et de *Plocamium cartilagineum* juste après l'inoculation et surtout à une concentration de 16 g/L d'extrait aqueux.

L'élicitation par les extraits aqueux d'algues brunes et rouges semble donc la cause de l'enrichissement des plantes de pomme de terre en flavonoïdes et qui permet à la plante de renforcer son système de défense contre les bactéries pathogènes (Fig. 56, 57, 58, 59).

#### 2.1.3.1.2. Evaluation de la teneur en tanins

La teneur en tanins chez les feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues brunes et rouges et/ou inoculées par *Dickeya dadantii* a été évaluée le long de l'expérimentation.

a. Algues brunes

La teneur en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par les extraits aqueux d'algues brunes a été suivie le long de notre expérimentation en comparaison avec des plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP.

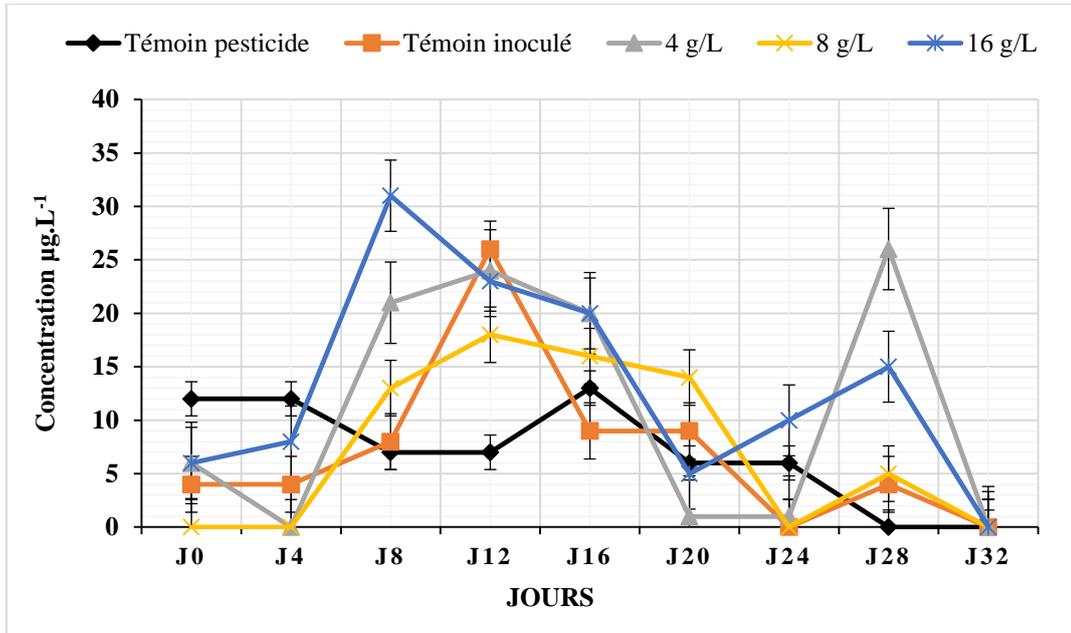


Figure 60 : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*.

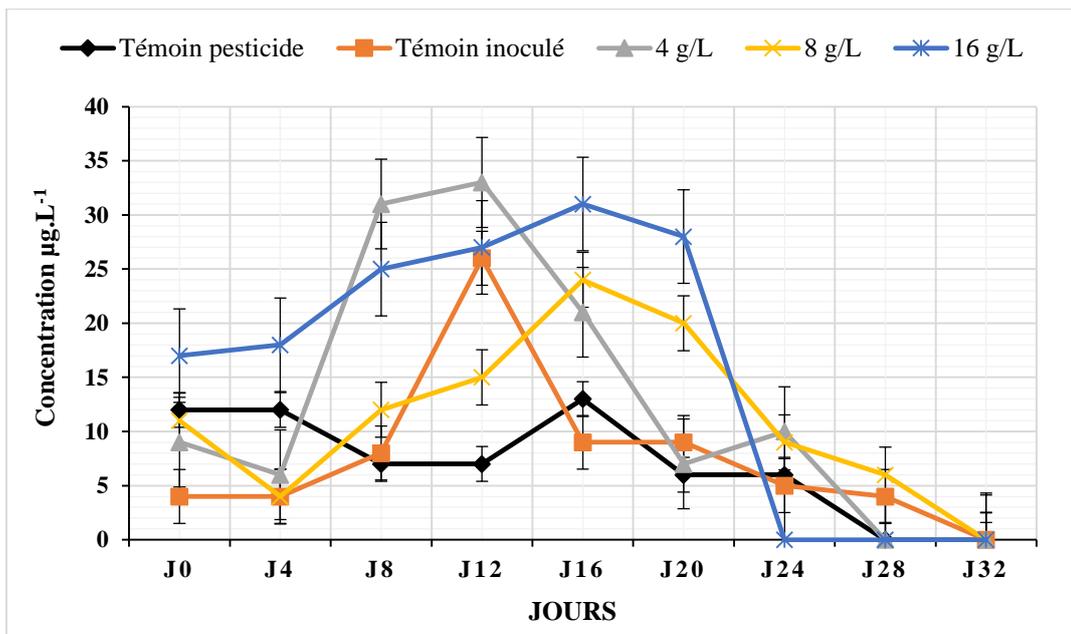


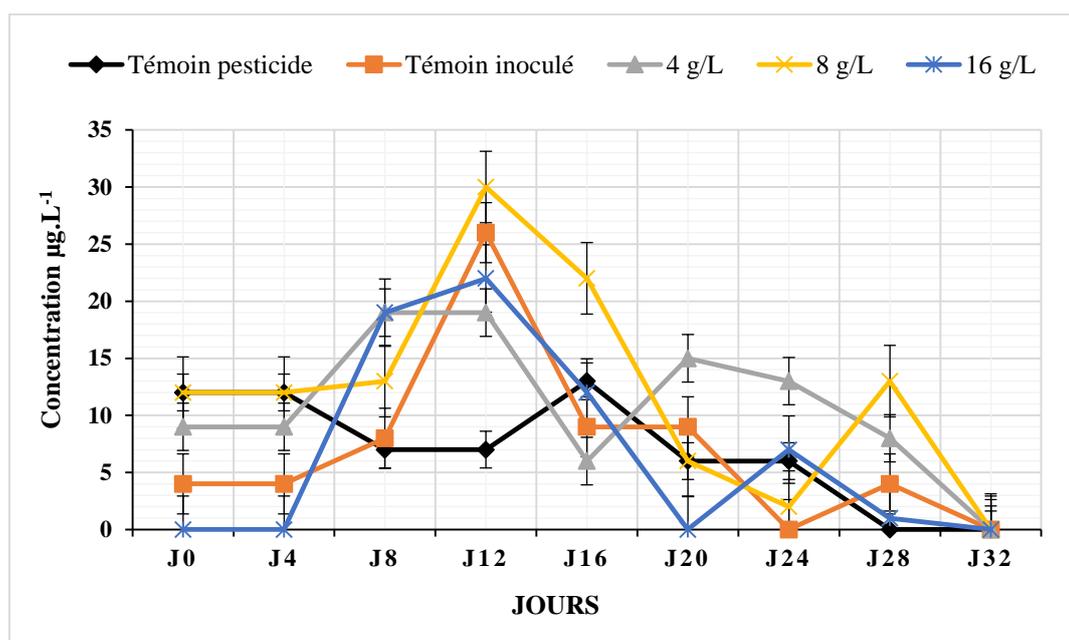
Figure 61 : Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*.

Les résultats montrent que la teneur en tanins augmente juste après l'inoculation chez les plantes élicitées par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* et surtout à 16 g/L en comparaison avec les plantes témoins. Ainsi, les plantes élicitées par l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* subissent également un enrichissement plus intense en teneur des tanins après l'inoculation par *Dickeya dadantii* et qui reste inactif chez les plantes traitées par un pesticide de référence (Fig. 60, 61).

L'enrichissement des plantes de pomme de terre en tanins semble donc impliqué dans les mécanismes de défense qui permet à la plante de se défendre contre la pourriture molle causée par *Dickeya dadantii*.

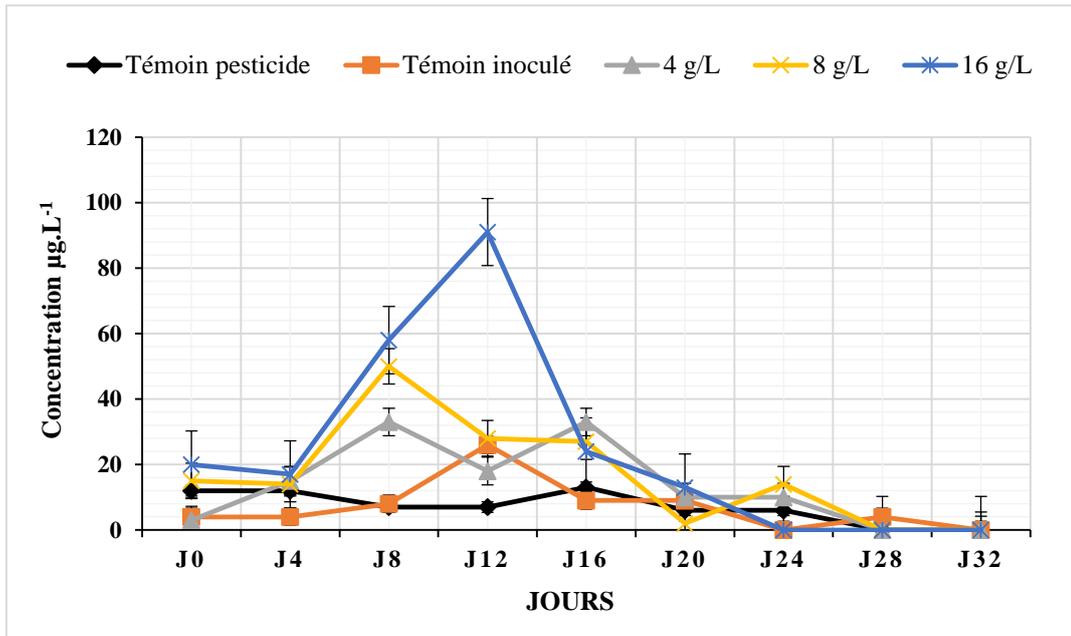
### **b. Algues rouges**

Un enrichissement des plantes de pomme de terre en tanins a été clairement observé lors de l'application des extraits aqueux d'algues rouges à différentes concentrations.

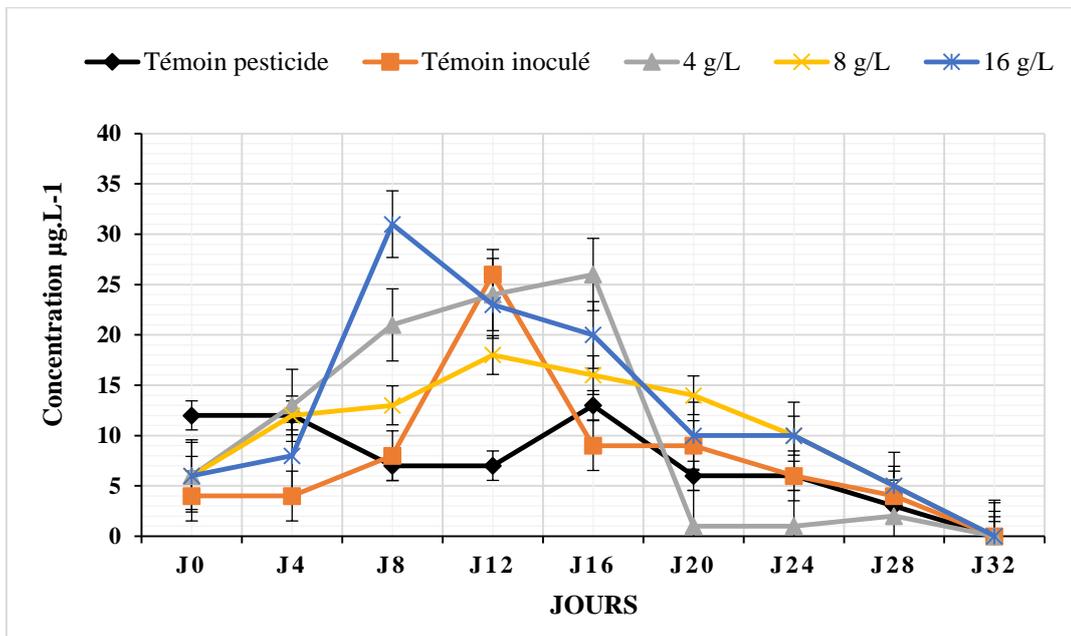


**Figure 62 :** Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*.

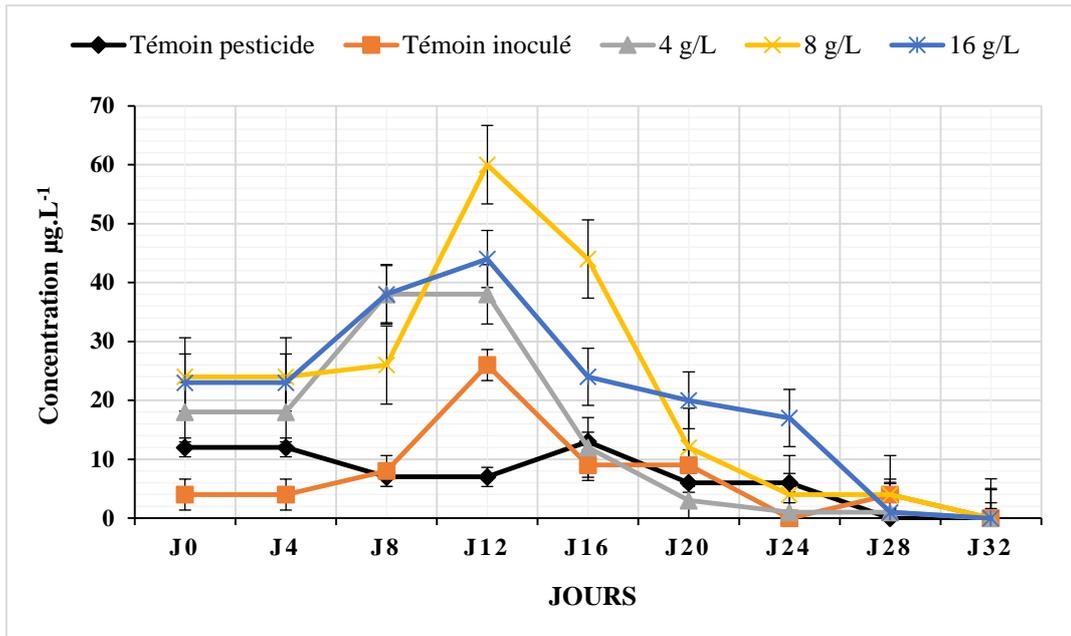
**PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre**



**Figure 63 :** Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*



**Figure 64 :** Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*



**Figure 65 :** Evaluation des teneurs en tanins chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*

De même, la teneur en tanins augmente juste après l'inoculation chez les plantes élicitées par les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* en comparaison avec les plantes témoins ou elle est presque stable ou inactive.

Les plantes élicitées par l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*, de *Plocamium cartilagineum* et de *Halopitys incurvus* subissent un enrichissement plus intense en teneur des tanins après l'inoculation par *Dickeya dadantii*. Les plantes témoins blessées et inoculées présentent aussi un enrichissement en tanins juste après l'inoculation (Fig. 62, 63, 64, 65).

L'élicitation par les extraits d'algues brunes et rouges semble donc la cause de l'enrichissement des plantes de pomme de terre en tanins et qui permet à la plante de renforcer son système de défense contre les bactéries pathogènes.

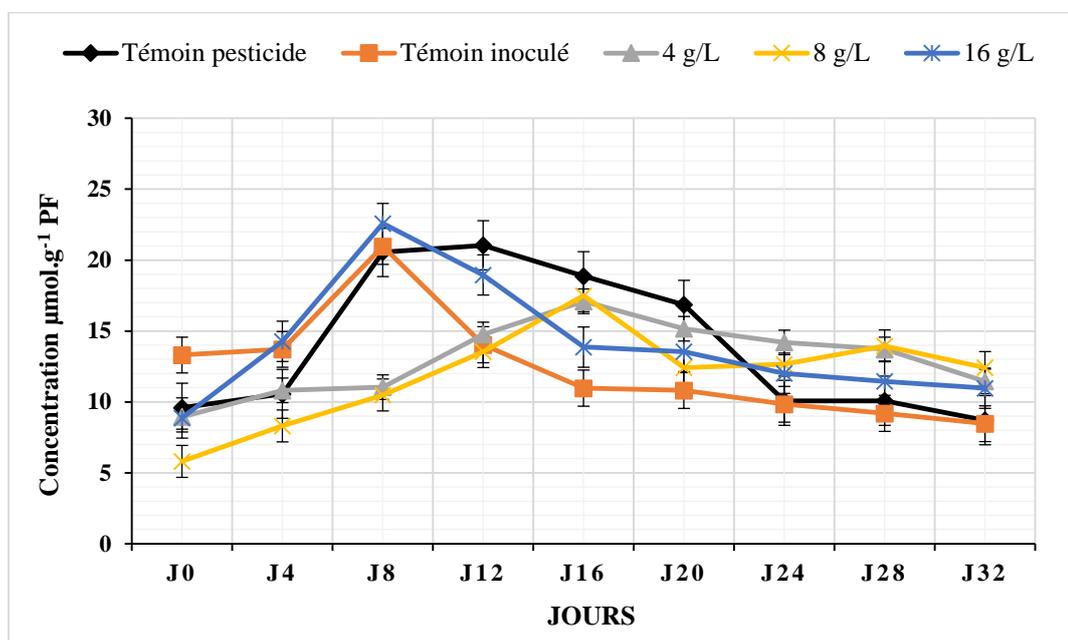
### 2.1.3.2. Evaluation de la teneur en peroxyde d'hydrogène : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le stress oxydatif est l'un des événements le plus rapidement observable dans les stratégies de défense des plantes. Le peroxyde d'hydrogène est le premier composé stable parmi les types d'oxygène actif produit dans les tissus des végétaux sous des conditions stressantes. Il agit directement sur les pathogènes par sa toxicité, mais également de façon indirecte en

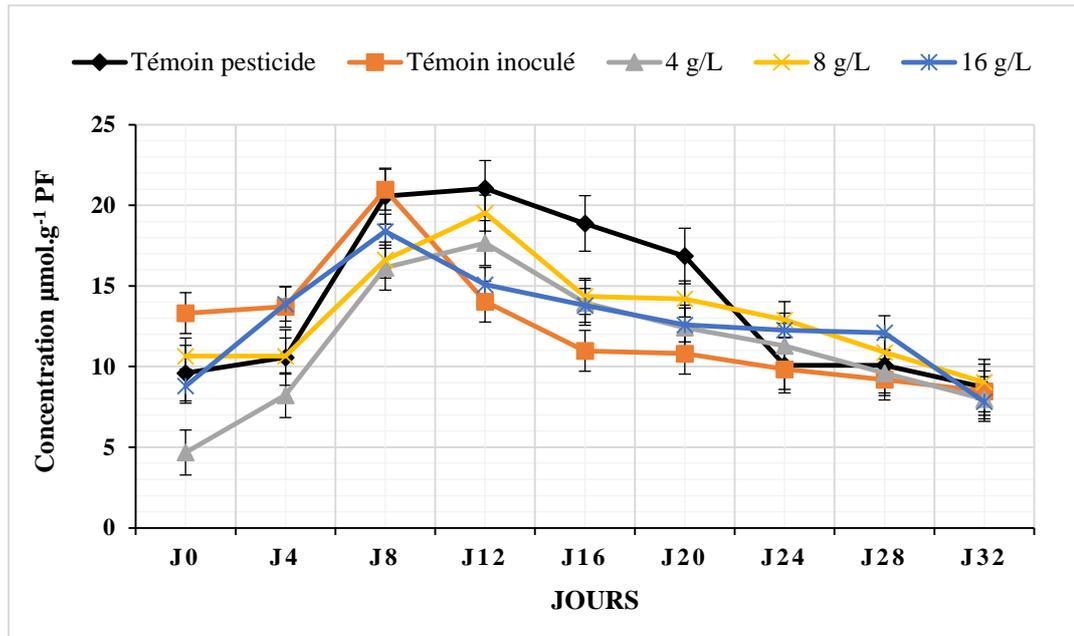
renforçant la paroi végétale, ce qui permet de ralentir la progression du pathogène, laissant ainsi à la plante le temps de mettre en place les systèmes de défenses.

**a. Algues brunes**

Pour examiner si les extraits aqueux d'algues brunes à différentes concentrations ont pu induire un éclatement oxydatif chez les plantes de pomme de terre prétraitées et inoculées, une cinétique de la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été réalisée. Les concentrations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été suivies pendant toute la durée de l'expérience.



**Figure 66** : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*



**Figure 67 :** Evaluation des teneurs en peroxyde d’hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l’extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*

Le prétraitement des plantes de pomme de terre inoculées avec *Dickeya dadantii* par des extraits aqueux d’algues brunes entraîne un enrichissement des plantes en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est considérablement similaire à celui observé chez les plantes traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP.

Les teneurs en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des feuilles subissent une augmentation plus lente que dans le cas des plantes inoculées non traitées lorsque l’éllicitation précède l’inoculation, elles deviennent donc plus riches en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Cependant, l’éllicitation par les extraits aqueux d’algues brunes semble intervenir pour déclencher l’enrichissement des feuilles en peroxyde d’hydrogène suite à l’inoculation, ce qui permet à la plante de se défendre contre l’attaque de la pourriture molle causée par *Dickeya dadantii* (Fig. 66, 67).

### b. Algues rouges

L’application des extraits aqueux des algues rouges assure la stimulation des défenses naturelles des plantes de pomme de terre inoculées avec *Dickeya dadantii* par leur enrichissement en peroxyde d’hydrogène et en permettant ainsi le renforcement de leur système de défense.

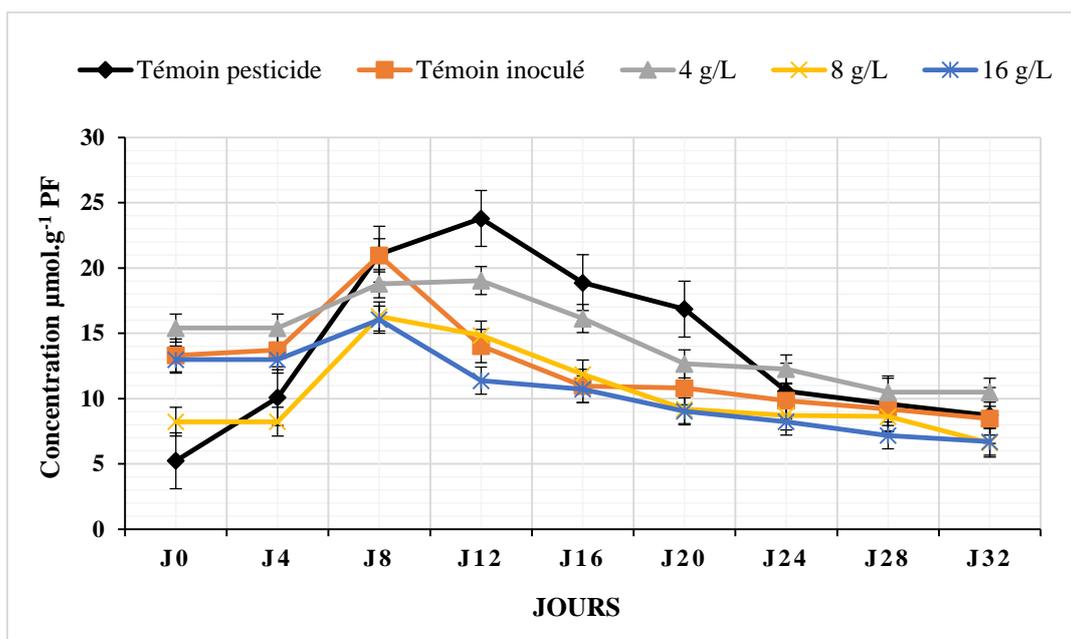


Figure 68 : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*

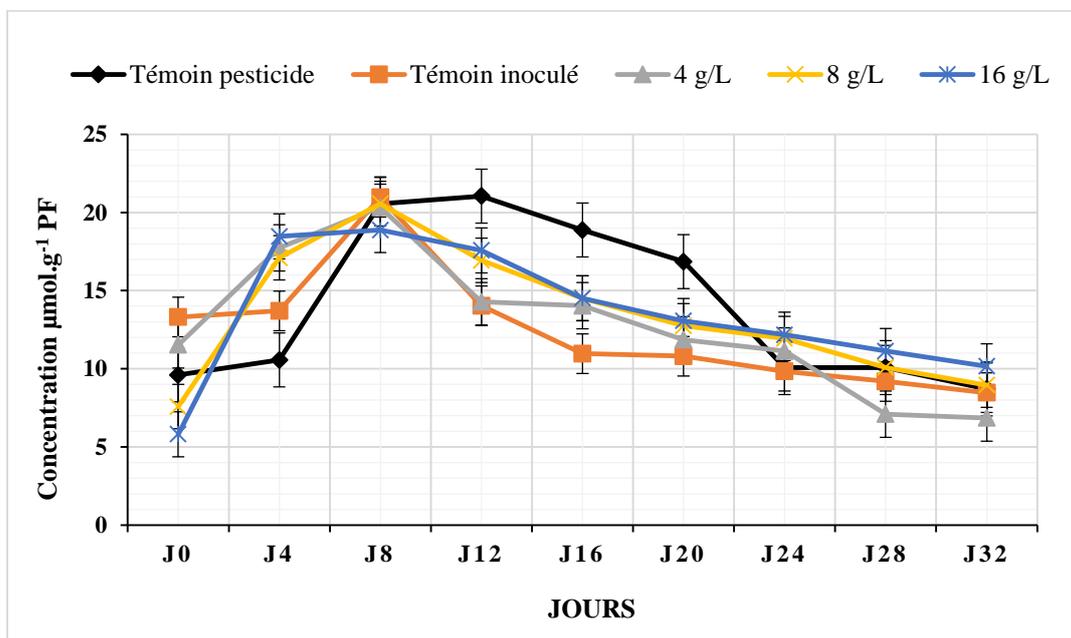
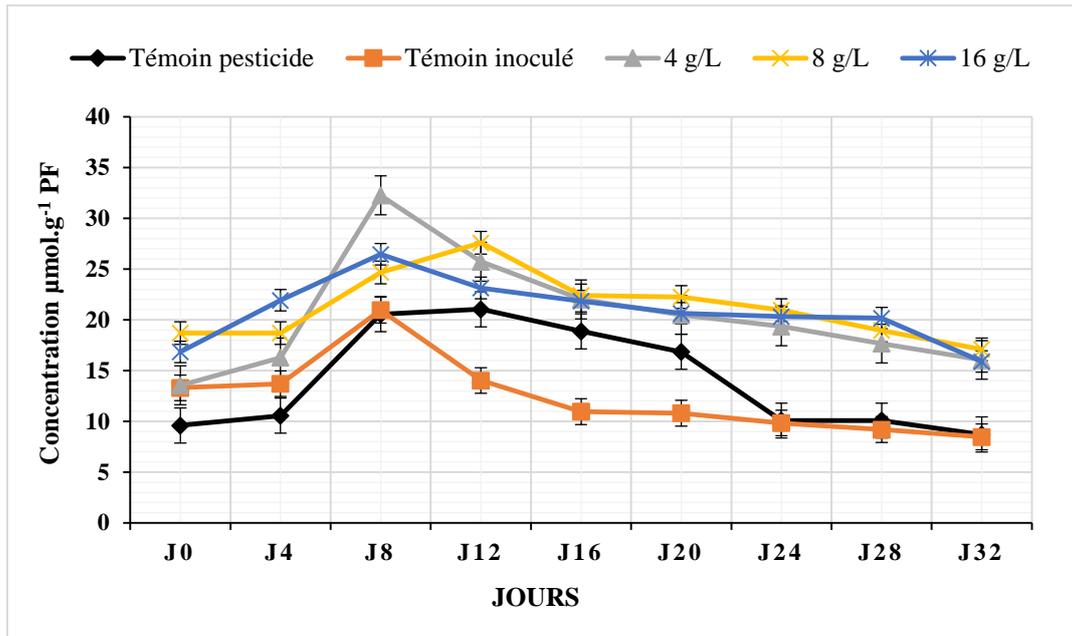
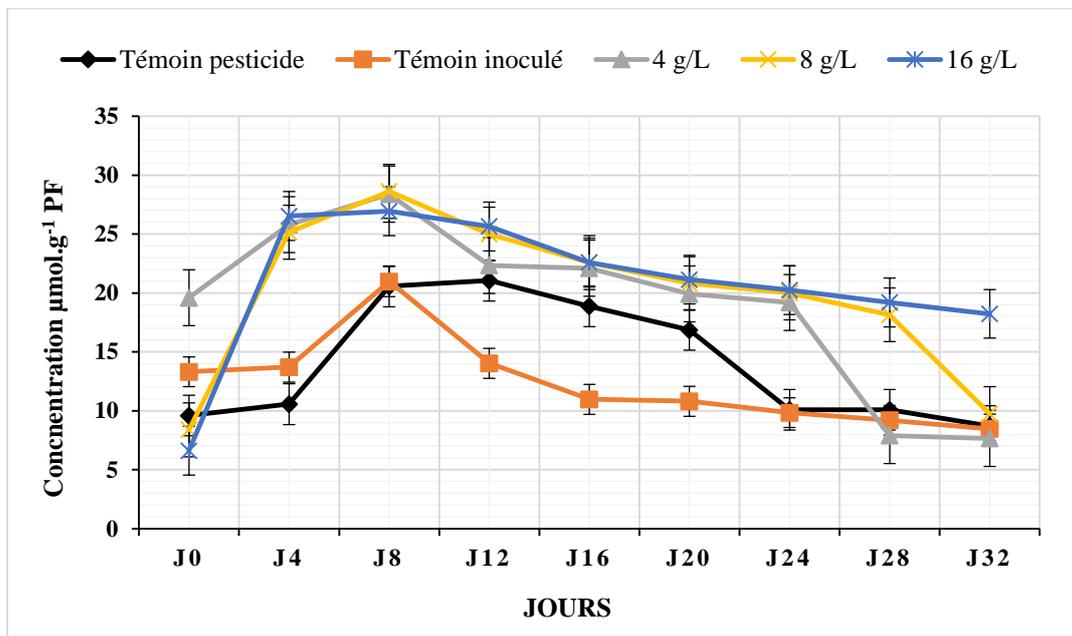


Figure 69 : Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*



**Figure 70 :** Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*



**Figure 71 :** Evaluation des teneurs en peroxyde d'hydrogène chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*

De même, une augmentation des teneurs en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été observée pendant toute la durée de l'expérience chez les plantes de pomme de terre prétraitées par les extraits aqueux de *Ellisolandia elongata* et de *Gracilaria cervicornis*. L'inoculation provoque globalement les

mêmes variations en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que dans les cas des témoins avec cependant un net enrichissement en ce composé chez les plantes prétraitées par les extraits aqueux d'algues marines. Cet enrichissement semble être en partie la conséquence des blessures pratiquées dans les racines.

Les concentrations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ont été enregistrées pendant toute la durée de l'expérience.

Les teneurs en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par les extraits aqueux d'algues marines étudiées subissent ainsi un enrichissement mais qui reste moins intense que dans le cas des plantes prétraitées par différentes concentrations d'extraits aqueux de *Plocamium cartilagineum* et de *Halopitys incurvus*.

Lorsque l'élicitation précède l'inoculation, les teneurs en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des feuilles des plantes de pomme de terre subissent une augmentation plus lente que dans le cas des plantes inoculées. Les feuilles issues des plantes prétraitées et inoculées par les extraits aqueux d'algues deviennent donc plus riches en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que celles issues des plantes inoculées. L'élicitation semble intervenir pour déclencher l'enrichissement des feuilles des plantes de pomme de terre en peroxyde d'hydrogène suite à l'inoculation, ce qui est impliqué dans la stimulation de la défense des plantes (Fig. 68, 69, 70, 71).

### **2.1.3.3. Evaluation de l'activité enzymatique de polyphénol- oxydase : PPO**

La polyphénoloxydase (PPO) est une enzyme capable de catalyser l'oxydation des composés phénoliques en présence de l'oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) pour former des quinones. Ces produits peuvent subir ensuite, des polymérisations oxydatives conduisant à la formation de pigments de couleur généralement brune, quelque fois rouge ou bleue.

Chez les végétaux, les PPO seraient impliquées dans les phénomènes de défense et de résistance aux infections bactériennes, fongiques et virales. On constate généralement une augmentation de l'activité des PPO à la suite d'un stress, qui serait due à la maturation des formes latentes des PPO par les protéases des pathogènes.

L'analyse des activités PPO a été effectuée sur des feuilles des plantes de pomme de terre pour examiner si les extraits aqueux d'algues à différentes concentrations ont été capables d'induire des mécanismes de défense chez les plantes de pomme de terre.

a. Algues brunes

L'activité PPO a été déterminée chez des plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées deux fois avec différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues brunes.

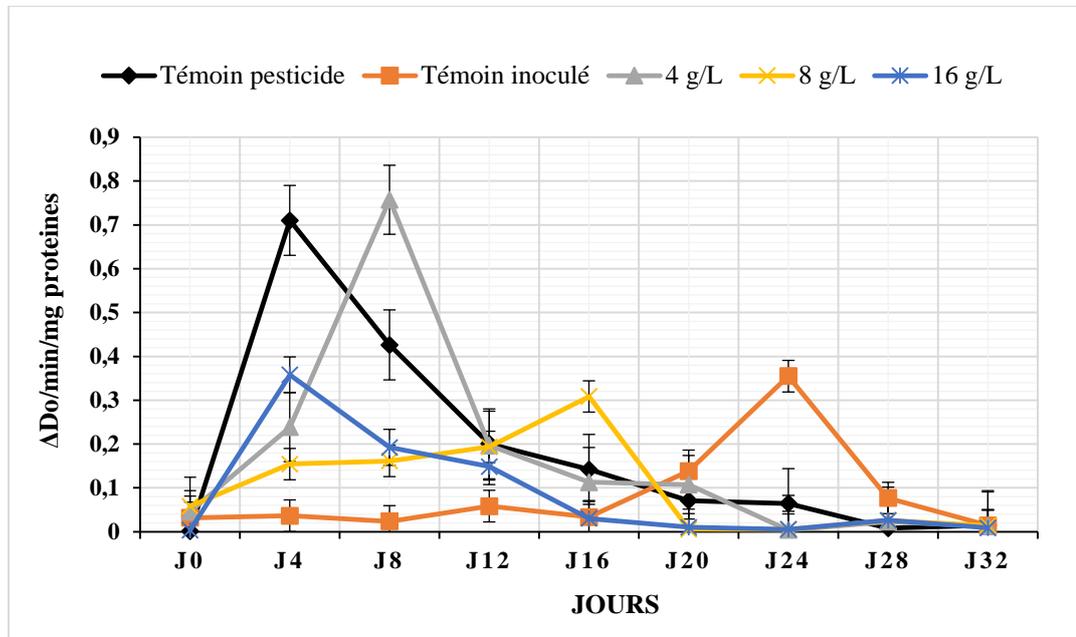


Figure 72 : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*

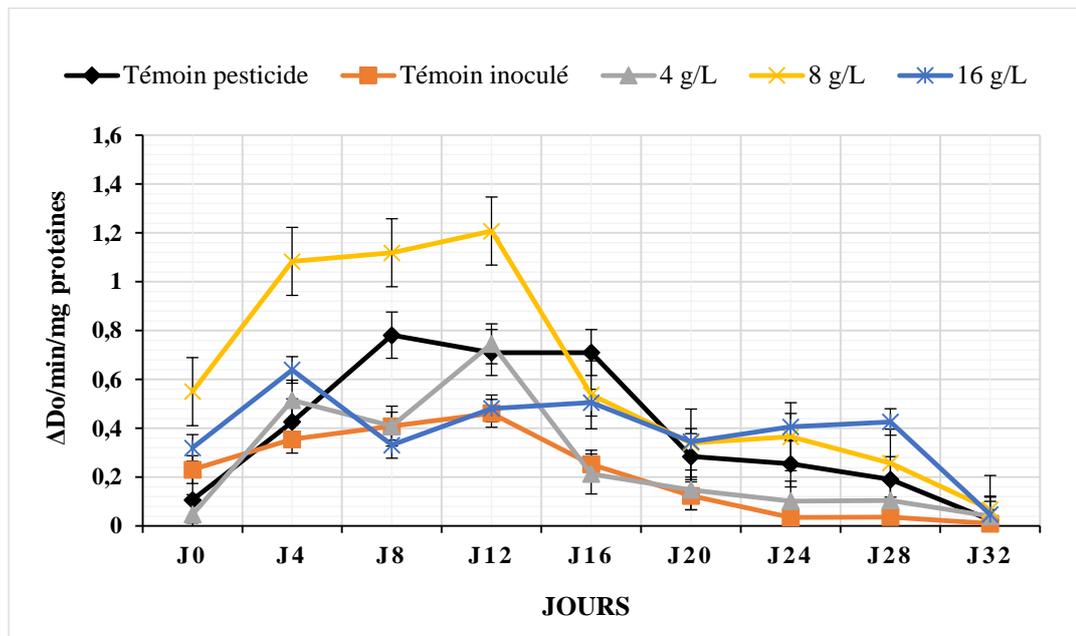


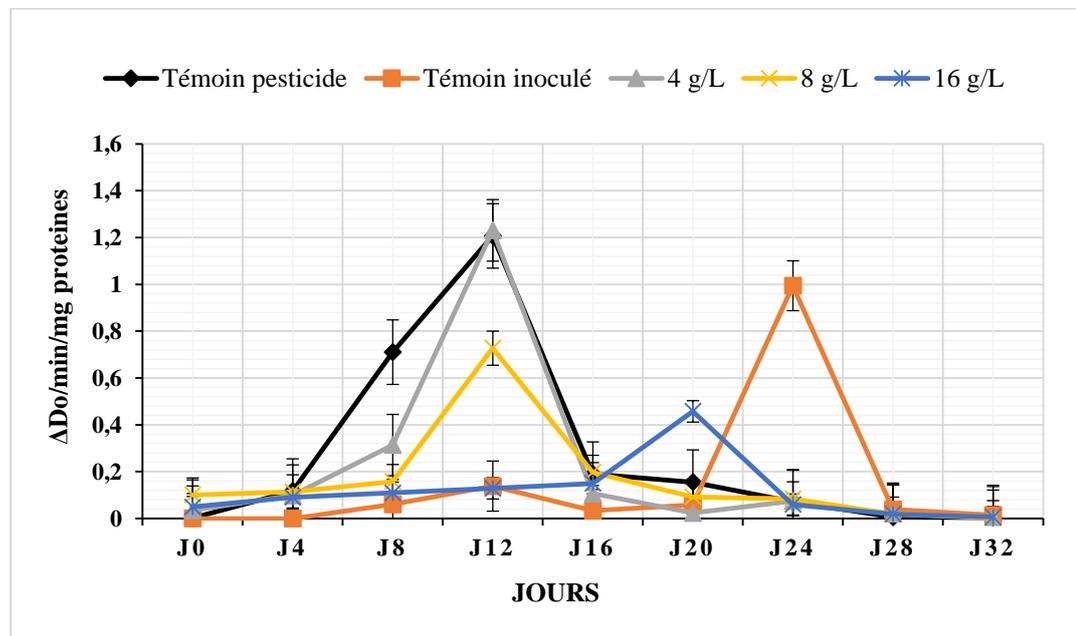
Figure 73 : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*

D'après les résultats obtenus on constate que les plantes de pomme de terre pulvérisées par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues brunes présentent une augmentation de l'enrichissement des feuilles en PPO juste après l'inoculation par *Dickeya dadantii*.

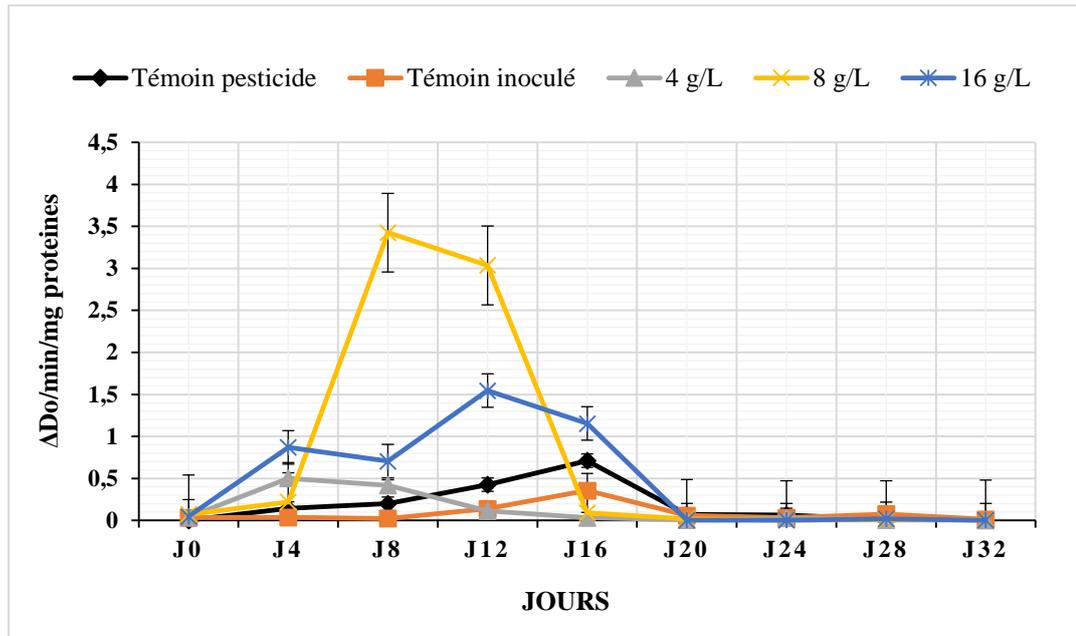
Chez les plantes de pomme de terre inoculées et prétraitées par 8 g/L d'extrait aqueux de *bifurcaria bifurcata*, une activation remarquable en PPO a été observée juste après l'inoculation et qui est deux fois plus intense en comparaison avec les plantes témoins inoculées et traitées par un pesticide de référence. Par contre, les plantes de pomme de terre prétraitées par les extraits aqueux de *Laminaria digitata* montrent un enrichissement considérablement supérieur à une concentration de 4 g/L d'extrait et en comparaison avec les plantes témoins inoculées et non traitées. Cet enrichissement est similaire à celui observé chez les plantes de pomme de terre traitées par un pesticide de référence (Fig. 72, 73).

### b. Algues rouges

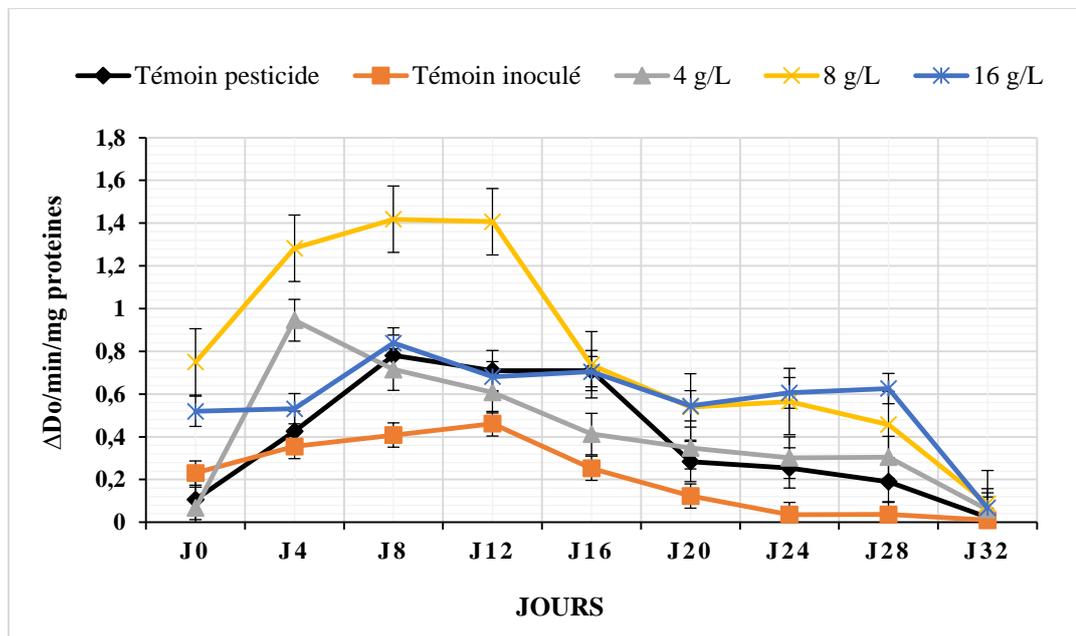
L'application des extraits aqueux des algues rouges par pulvérisation à deux reprises entraine un enrichissement intense en PPO chez des plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii*, ce qui favorise le renforcement de leur système de défense.



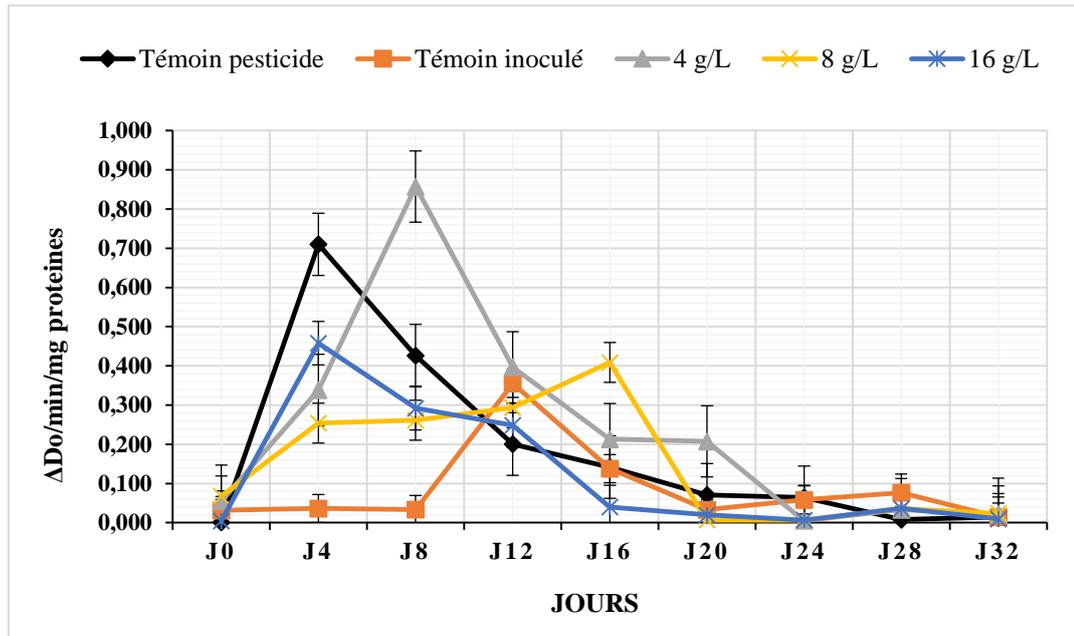
**Figure 74 :** Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*



**Figure 75 :** Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*



**Figure 76 :** Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*



**Figure 77** : Activité enzymatique de la PPO chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*

De même, chez les plantes de pomme de terre inoculées et prétraitées par 8 g/L d'extraits aqueux de *Gracilaria cervicornis* et de *Halopitys incurvus*, une activation remarquable de PPO a été observée juste après l'inoculation et qui est deux fois plus intense en comparaison avec les plantes témoins inoculées et traitées par un pesticide de référence.

Un enrichissement plus intense a été observé aussi chez les feuilles des plantes de pomme de terre prétraitées par 4 g/L d'extraits aqueux de *Ellisolandia elongata* et de *Plocamium cartilagineum*. Cet enrichissement est deux fois plus élevé que celui des plantes témoins inoculées et traitées par un pesticide de référence. Par contre, les plantes de pomme de terre prétraitées par 16 g/L d'extrait aqueux d'algues, représentent un enrichissement moindre mais plus intense que les plantes témoins inoculées (Fig. 74, 75, 76, 77).

L'enrichissement des feuilles des plantes de pomme de terre en PPO est donc dû au fait que les micro-organismes pathogènes déclenchent chez les plantes l'expression des gènes de défense conduisant à la mise en place des molécules antibiotiques comme la PPO et cela en fonction d'une élévation par différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues marines.

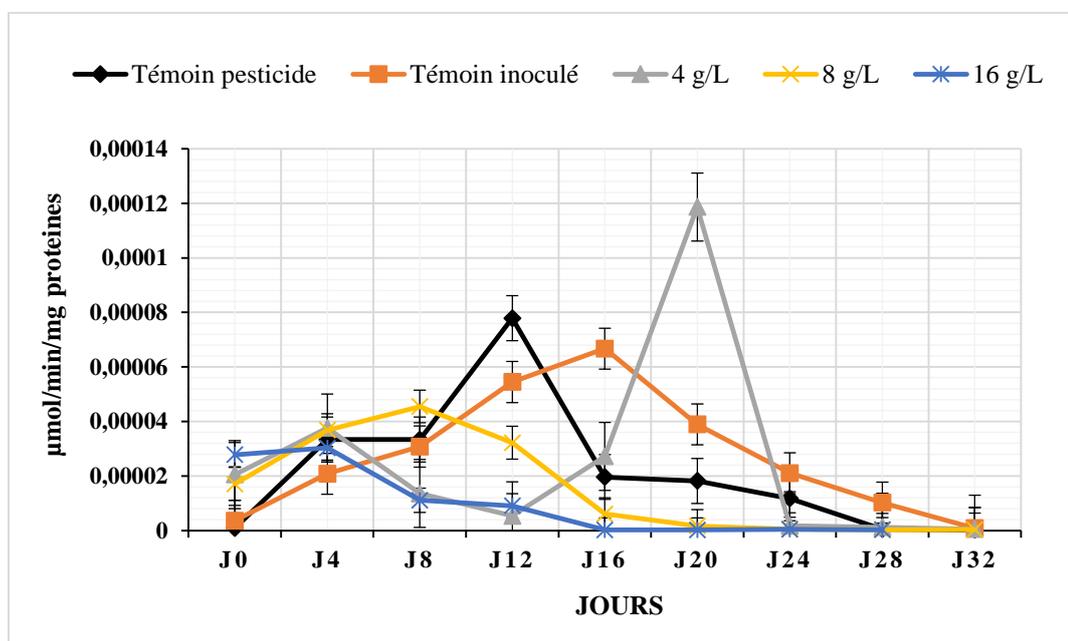
### 2.1.3.4. Evaluation de l'activité enzymatique de peroxydase : POX

Les peroxydases, sont des enzymes catalysant l'oxydation de plusieurs substrats en présence du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Elles sont impliquées dans plusieurs processus physiologiques dont la croissance et la résistance aux contraintes biotiques et abiotiques.

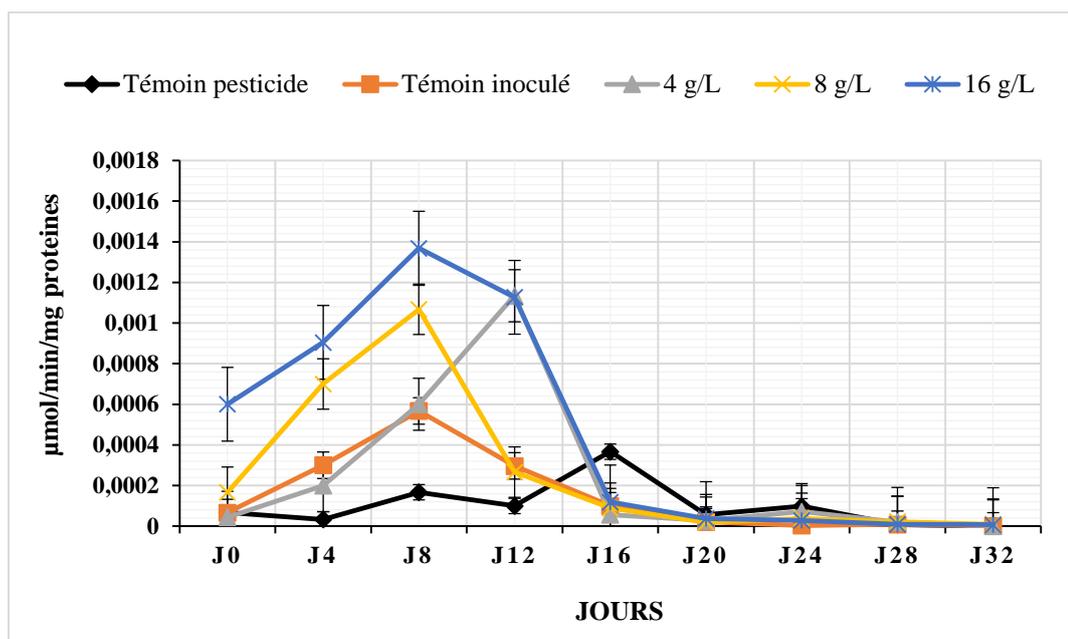
L'analyse des activités POX a été effectuée pour examiner si les extraits aqueux d'algues à différentes concentrations ont été capables d'induire des réponses de défense contre *Dickeya dadantii* chez les plantes de pomme de terre. L'activité POX a été déterminée chez des plantes de pomme de terre prétraitées deux fois avec les extraits aqueux d'algues brunes et rouges.

#### a. Algues brunes

L'analyse de l'activité de POX a été effectuée chez les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* afin d'examiner si les extraits aqueux d'algues à différentes concentrations ont été capables d'induire des mécanismes de défense. L'activité de POX a été déterminée chez des plantes prétraitées deux fois avec les extraits aqueux de différentes algues brunes.



**Figure 78 :** Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata*



**Figure 79 :** Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata*

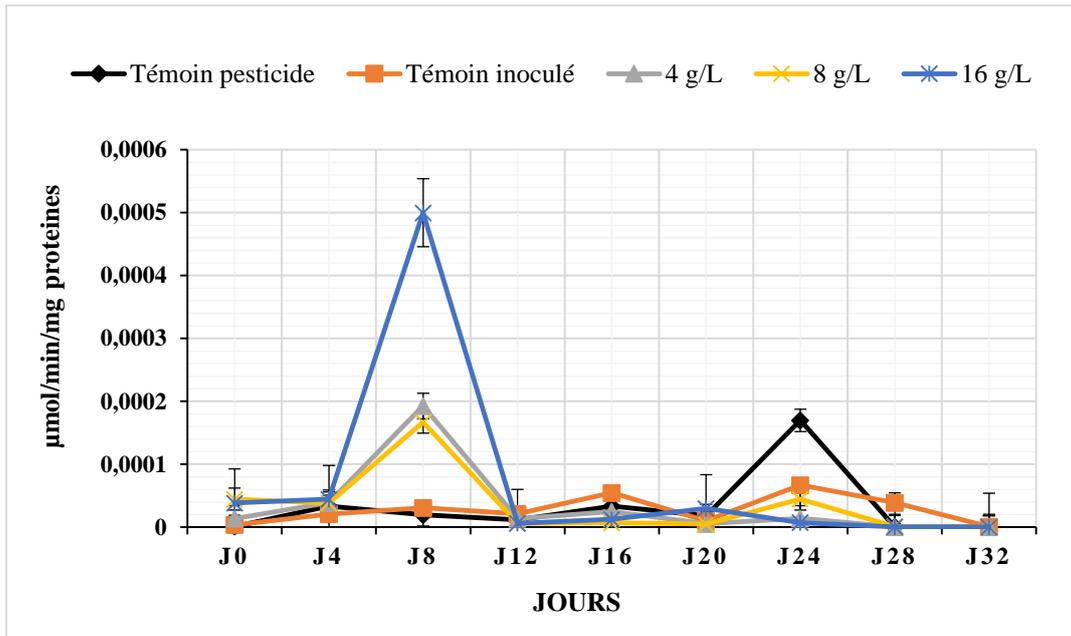
Chez les plantes de pomme de terre prétraitées avec les extraits aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à 8 g/L et à 4 g/L, un enrichissement plus élevé en POX a été observé juste après l'inoculation à partir du 4<sup>ème</sup> jour. Cet enrichissement était deux fois plus intense que celui observé chez les plantes témoins inoculées et traitées par un pesticide de référence.

Un enrichissement considérablement supérieur en POX a été également observé chez les plantes de pomme de terre prétraitées par l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à une concentration de 4 g/L et qui reste deux fois plus intense que les plantes témoins (Fig. 78, 79).

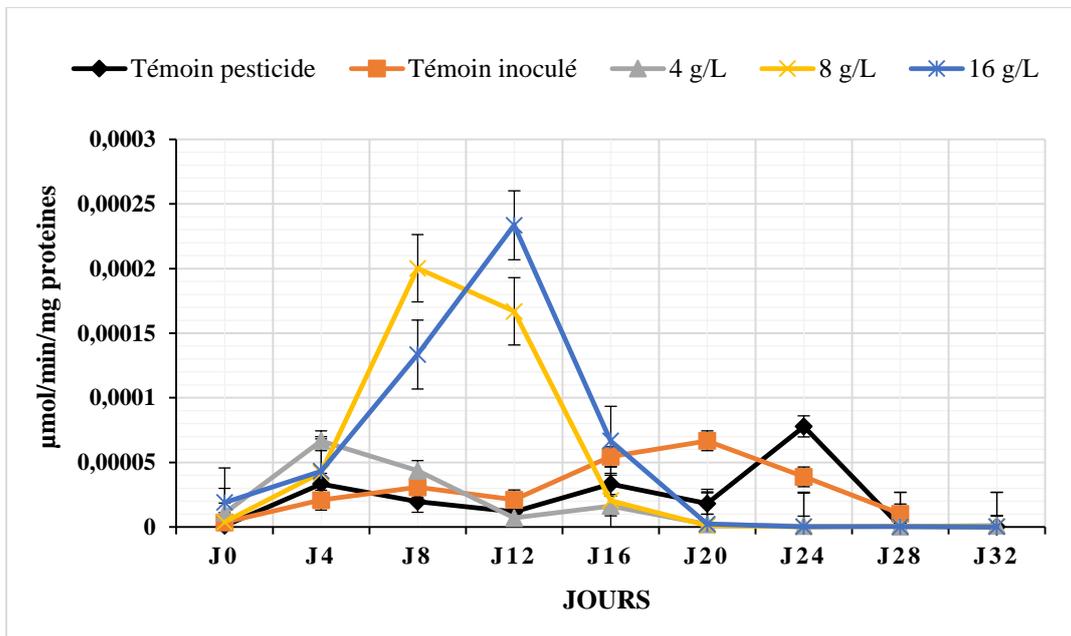
### b. Algues rouges

Les plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* et prétraitées par les extraits aqueux d'algues rouges à différentes concentrations présentent un enrichissement plus élevé en POX et qui reste deux fois plus intense que les plantes témoins traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP.

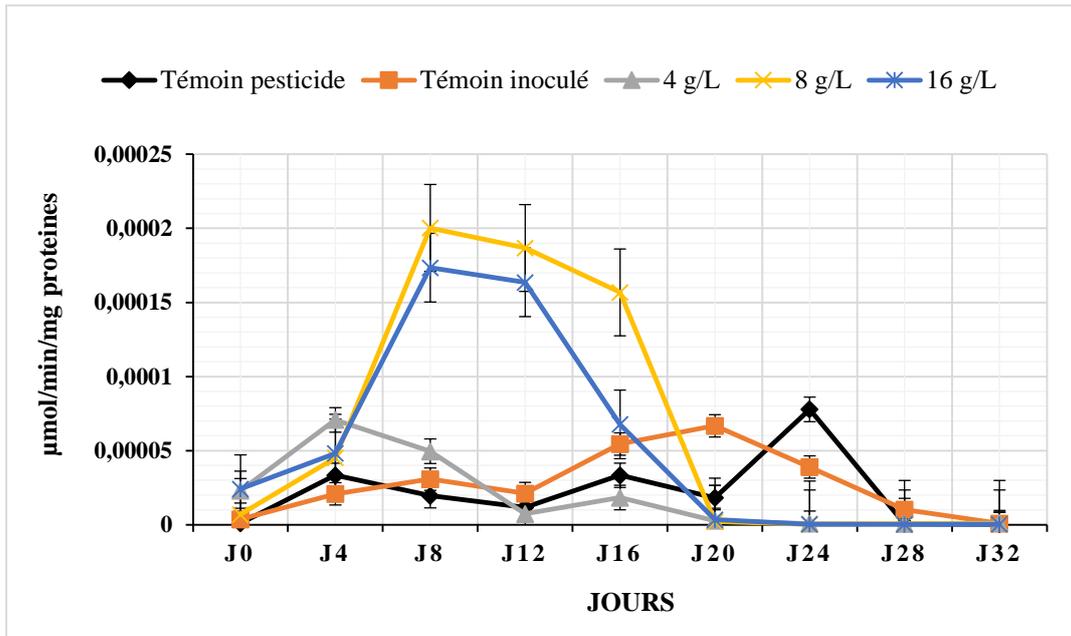
**PARTIE III : Bio-pesticides - Pourriture molle de la pomme de terre**



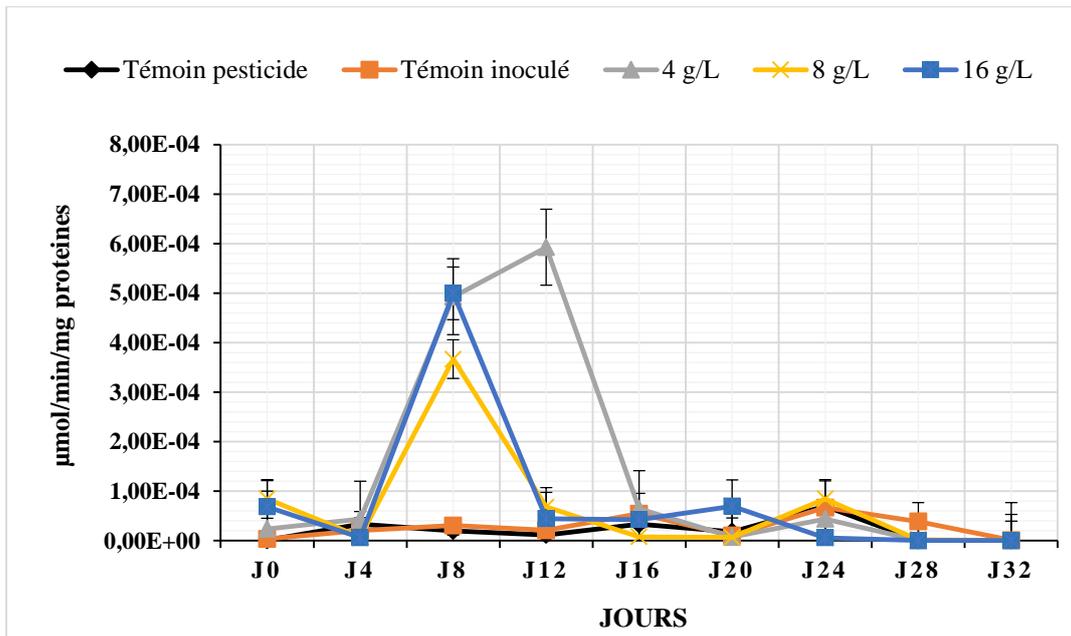
**Figure 80 :** Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata*



**Figure 81 :** Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis*



**Figure 82 :** Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus*



**Figure 83 :** Evaluation de l'activité de la peroxydase chez les plantes de pomme de terre prétraitées par différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum*

De même, chez les plantes de pomme de terre prétraitées avec les extraits aqueux de *Gracilaria cervicornis* et de *Halopitys incurvus* à 8 g/L et à 16 g/L, un enrichissement plus élevé a été observé juste après l'inoculation. Cette augmentation était deux fois plus intense que celle observée chez les plantes témoins traitées par un pesticide de référence. Par contre, chez

les plantes prétraitées par 16 g/L de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* et de *Plocamium cartilagineum* un enrichissement considérablement supérieur à celui des plantes témoins a été observé juste après l'inoculation.

Les plantes prétraitées par les extraits aqueux de *Plocamium cartilagineum* présentent un enrichissement plus élevé à une concentration de 4 g/L d'extrait, et qui reste deux fois plus intense que les plantes témoins (Fig. 80, 81, 82, 83).

Cependant, l'enrichissement des feuilles des plantes de pomme de terre en POX est donc dû au fait que les micro-organismes pathogènes en association avec l'élicitation par les différentes concentrations d'extraits aqueux d'algues marines, déclenchent chez les plantes l'expression des gènes de défense conduisant à la mise en place des molécules antibiotiques comme la POX.

#### **2.1.3.5. Discussion**

Les extraits d'algues ont la capacité d'améliorer la tolérance au stress chez de nombreuses espèces de plantes par l'augmentation de la concentration des molécules bioactives, notamment des antioxydants chez les plantes traitées (Fan, 2011).

Les différents stress appliqués aux plantes de pomme de terre, provoquent une accumulation des teneurs en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), ainsi, le stress abiotique provoqué par les blessures des racines induit une accumulation de  $H_2O_2$ . Ces résultats semblent en accord avec plusieurs travaux traitant l'implication du peroxyde d'hydrogène dans la réaction aux agressions abiotiques (Ashraf et Harris, 2004). L'augmentation du peroxyde d'hydrogène semble intervenir principalement pour jouer un rôle de médiateur servant pour la transduction du signal de stress (Moussa, 2006).

Dans le cas des plantes inoculées, les feuilles des plantes de pomme de terre subissent un enrichissement légèrement plus intense en  $H_2O_2$ . Là aussi, les résultats obtenus semblent en accord avec plusieurs travaux notamment ceux de Majourhata et *al.* (2002) qui signalent une augmentation des peroxydases chez les palmiers dattiers après infection par le *Fusarium oxysporum f. sp. albedenis* agent causal de Bayoud. Le peroxyde d'hydrogène agirait comme un messager déclenchant une modification des flux ioniques ou la production de seconds messagers tel que l'acide salicylique. Il interviendrait aussi en renforçant la paroi végétale par pontage oxydatif des protéines ou des polysaccharides (Lamb et Dixon, 1997) permettant ainsi la mobilisation des systèmes de défense.

En effet, le peroxyde d'hydrogène par sa toxicité exerce un effet direct sur l'agent pathogène. Il agit également de façon indirecte en favorisant le renforcement de la paroi végétale par l'accumulation de  $H_2O_2$  à l'extérieur de la cellule dès la détection de l'éliciteur, ce qui déclenche l'ouverture des canaux ioniques et induit un changement de potentiel membranaire, avec l'induction de messagers secondaires, causant ainsi un stress oxydatif, qui correspond à la production de  $H_2O_2$ . Cela génère des interactions au niveau de la paroi et permet la consolidation de celle-ci, en formant une sorte de barrière contre le pathogène, permettant ainsi le ralentissement de la progression de l'agent pathogène et laissant aux autres mécanismes de défense de la plante le temps de se mettre en place (Low et Merida, 1996 ; Lamb et Dixon, 1997).

Le stress oxydatif est l'un des événements le plus rapidement observable dans les stratégies de défense des plantes. Il consiste à la production de forme active de l'oxygène (FAO), principalement composé du radical superoxyde  $O_2^-$ , du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  et du radical  $OH^\cdot$ . Il est le premier composé stable parmi les types d'oxygène actif produit chez les tissus végétaux sous des conditions stressantes. Il intervient également dans certains modèles en amont de la production des phytoalexines, dans l'expression des gènes de défense et sur l'initiation de la réponse hypersensible RH (Low et Merida, 1996). Ce qui explique que lorsque la plante est stressée, elle peut se protéger contre les agresseurs soit par ses premières lignes de défense qui sont des barrières physiques telles que la cuticule, les téguments ainsi que des substances chimiques antibiotiques préexistantes dans la plante. Soit elle synthétise des composés biochimiques ayant des propriétés antimicrobiennes ou anti ravageurs qui permettent aux plantes de se défendre et d'accroître la résistance contre un large spectre d'agents pathogènes.

Les peroxydases, sont des enzymes catalysant l'oxydation de plusieurs substrats en présence du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Elles sont impliquées dans plusieurs processus physiologiques dont la croissance et la résistance aux contraintes biotiques et abiotiques. La diversité de leurs aspects quantitatifs et qualitatifs fait de ces oxydo-réductases des marqueurs potentiels chez plusieurs plantes.

D'une manière générale, les peroxydases sont connues pour être impliquées dans la résistance des plantes aux agents pathogènes. On leur reconnaît un rôle dans la synthèse de la lignine (Ride, 1983), ainsi que de la subérine (Mohan et Kolattukudy, 1990) dans les parois cellulaires de la plante pour former une barrière physique contre la pénétration de l'agent pathogène. Des composés phénoliques peuvent être convertis en composés antimicrobiens par

les peroxydases (Kobayashi et *al.*, 1994). Elles sont connues pour jouer plusieurs rôles contre l'invasion des organismes étrangers chez de nombreuses espèces végétales comme l'orge (Craig et *al.*, 1995), le tabac (Buonaurio et Montalbini, 1995), le blé (Holden et Rorhinger, 1985), le riz (Young et *al.*, 1995), ou encore la tomate (Reuveni et Ferrera, 1985). Ces peroxydases interviennent notamment dans la modification de la paroi cellulaire résultant d'une augmentation de la synthèse de lignine (Polle et *al.*, 1994) et/ou de subérine (Espelie et *al.*, 1986), de pontages covalents entre les protéines de la paroi cellulaire et de l'incorporation de flavonoïdes dans les parois (Kobayashi et *al.*, 1994). Ces enzymes, intervenant dans les différents mécanismes qui conduisent à une rigidification de la paroi, permettent ainsi à la cellule de se protéger de toute pénétration d'agents pathogènes.

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux issus des voies de pentose phosphate, de shikimate et de phenylpropanoïdes (Randhir et *al.*, 2004). Ils sont impliqués dans des fonctions écologiques, notamment la défense des plantes contre les microbes, les insectes et autres ennemis (Berenbaum, 1995).

L'infection d'une plante par un microorganisme pathogène induit une grande variété de réactions de défense impliquant notamment la production des produits directement dérivés du métabolisme phénolique. Les composés phénoliques sont impliqués à divers titres dans la défense des plantes. En tant que composés pré-infectionnels ou post-infectionnels, dont les teneurs peuvent augmenter pendant l'infection, ils participent à des mécanismes de défense de type constitutifs. L'établissement d'une interaction hôte-parasite peut donc conduire à des modifications importantes du métabolisme phénolique impliquant l'activation, la régulation mais aussi l'expression des gènes spécifiques chez l'hôte (Clériver et *al.*, 1996).

La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (Rees et Harborne, 1985). Des chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'identification des principes actifs dans les extraits avec l'étude complémentaire intensive de leurs mécanismes d'action (Sun et *al.*, 2015). Ziouti et *al.* (1998), ont étudié l'implication des composés phénoliques du palmier dattier dans la réaction de défense de cette plante contre le Bayoud, maladie infectieuse due à un champignon tellurique *Fusarium oxysporum f.sp* et ils ont étudié aussi les résultats relatifs à l'effet de l'inoculation par l'agent pathogène sur la composition phénolique et sur les enzymes d'oxydation des phénols. Ces composés pourraient contribuer dans la défense du palmier puisque l'insolubilisation des phénols dans les parois cellulaires participe au renforcement et à

la rigidification de celles-ci qui deviennent alors moins dégradables par les parasites (Tan *et al.*, 1992).

Les polyphénoloxydases (PPO) sont des enzymes largement répandues dans le règne végétal. Elles catalysent l'oxydation des phénols en o-quinones. Les oquinones, par polymérisation donnent des pigments bruns qui altèrent la qualité des aliments et des fruits en post-récolte. Du fait de leur implication dans le brunissement enzymatique, Elles sont impliquées dans les réactions de défense des plantes (Subroto *et al.*, 1996 ; Wititsuwannakul *et al.*, 2002).

Lorsque les plantes sont blessées ou attaquées par des agents pathogènes, elles réagissent par des modifications du métabolisme. Ces modifications peuvent se manifester au point d'inoculation de l'agent pathogène par une nécrose entourée de cellules vivantes dont les parois sont renforcées par des dépôts de callose, de lignines et d'autres composés phénoliques (Housti *et al.*, 2002). Il y a également induction et stimulation de l'activité de certaines enzymes comme les PPO (Constabel *et al.*, 2000). Des études effectuées dans ce domaine ont montré que certains éliciteurs, entre autres, l'acide salicylique (AS) peuvent simuler une infection et, de ce fait, moduler l'activité des PPO.

Nos résultats de l'activité des PPO évaluée chez les feuilles des plantes de pomme de terre inoculées et stimulées par traitement à l'extrait d'algues sont en accord avec ceux obtenus par Kim *et al.* (2001), Constabel *et al.* (2000) et Wititsuwannakul *et al.* (2002), qui ont montré que l'expression inductible du polyphénol oxydase (PPO) chez les plantes de pommiers et de peuplier hybride suite à une blessure mécanique simulant des dommages causés par un insecte, augmente de façon spectaculaire chez les feuilles blessées et non blessées. Cette activité de PPO renforce le rôle défensif de cette protéine contre les agents pathogènes (Kuwabara *et al.*, 1997 ; Housti *et al.*, 2002).

La stimulation des PPO a été précoce dans les plantes prétraitées, blessées et inoculées. Toutefois, elle a été tardive pour les plantes témoins inoculées (J24). Ces résultats sont en accord avec ceux respectivement obtenus par Kim *et al.* (2001) et de Constabel *et al.* (2000) au terme de leurs travaux sur le pommier et le peuplier pour lesquels l'optimum des PPO a été obtenu 24 heures après blessure. Le niveau d'activation a varié avec les cultivars.

Les plantes de pomme de terre ont été fortement stimulées par les extraits d'algues, l'activité des PPO a doublé après inoculation des plantes au moyen des extraits d'algues ce qui montre leurs implications dans les réactions de défense des plantes. Les travaux effectués par certains auteurs confirment cette hypothèse. En effet, Subroto *et al.* (1996) ont montré que la

fraction de latex recueillie à la base de laticifère contient plusieurs protéines liées à la pathogénie [pathogenesis related (PR) proteins] comme les chitinases et la  $\beta$ -1,3-glucanase.

Wititsuwannakul et *al.* (2002), ont obtenu une forte activité des PPO dans une fraction similaire de latex du clone GT1 de l'hévéa le plus résistant aux maladies. En outre, l'activité protéolytique des PPO mise en évidence par Kuwabara et Katoh (1999) chez l'épinard renforce l'implication de ces enzymes dans la défense des plantes. La destruction de certaines protéines accélère l'apoptose des cellules et, de ce fait, limite la progression des agents pathogènes dans les organes infectés.

L'implication de ces derniers dans les réactions de défense chez les plantes n'est plus à démontrer et semble agir soit directement par leurs propriétés toxiques vis-à-vis des agents pathogènes, soit de manière indirecte en renforçant les systèmes de défense des plantes.

### **III. Conclusion**

Sur les 24 espèces d'algues étudiées, deux algues brunes : *Laminaria digitata* et *Bifurcaria bifurcata* et quatre algues rouges représentées par *Halopitys incurvus*, *Ellisolandia elongata*, *Gracilaria cervicornis* et *Plocamium cartilagineum*, ont montré une forte activité antibactérienne *in vitro* contre les deux souches bactériennes responsables de la pourriture molle chez la culture de pomme de terre (*Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis*) avec un diamètre d'inhibition de 14 à 25 mm. Cette activité témoigne de la richesse de ces espèces en composés biologiquement actifs contre les bactéries responsables de la pourriture molle de la pomme de terre (*Dickeya dadantii* et *Pectobacterium brasiliensis*).

L'application des extraits aqueux d'algues actifs (*Laminaria digitata*, *Bifurcaria bifurcata*, *Halopitys incurvus*, *Ellisolandia elongata*, *Gracilaria cervicornis* et *Plocamium cartilagineum*) par pulvérisation sur des plantes de pomme de terre inoculées par *Dickeya dadantii* induit une réduction considérable des différents symptômes de la pourriture molle.

La gravité de la maladie est réduite à environ 90 % chez les différentes plantes de pomme de terre prétraitées par les différents extraits d'algues en comparaison avec les plantes inoculées et traitées par le pesticide de référence Systemil 72WP. Cette réduction est considérable juste après l'inoculation et persiste le long de l'expérience. L'incidence des différents symptômes de la pourriture molle a été considérablement réduite avec l'utilisation d'une faible concentration d'extraits aqueux d'algues (4 g/L).

En parallèle, le traitement par les extraits aqueux de ces algues a entraîné une augmentation importante des paramètres de croissance végétative et des caractéristiques de

rendement des plantes de pomme de terre puisqu'elles contiennent divers microéléments en plus des macroéléments et des hormones comme les auxines, les gibberellines et les cytokinines, qui provoquent une augmentation de la capacité de croissance des racines, l'absorption des éléments nutritifs et la croissance de la tige de manière considérable.

De même, l'application de ces différents extraits entraîne après l'inoculation par *Dickeya dadantii* le déclenchement d'une variété des molécules antibactérienne comme les composés phénoliques, les PPO, les POX et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui agissent soit directement par leurs propriétés toxiques vis-à-vis de l'agent pathogène soit de manière indirecte en renforçant les systèmes de défense de la plante. Cependant, les différentes enzymes accumulées sont impliquées dans la stimulation des réactions de défense avant et après le traitement. L'élicitation par les extraits d'algues semble donc intervenir en renforçant les mécanismes de défense des plantes de pomme de terre vis-à-vis de *Dickeya dadantii*.

# **Conclusion Générale**

Depuis longtemps, les macro-algues jouent un rôle économique et écologique très important pour les communes du littoral. Malheureusement aujourd'hui, les algues sont encore peu valorisées. Vu leur compositions, les algues sont une source de métabolites bioactifs avec des activités biologiques très variées et qui peuvent être utilisées en tant que fertilisant ou comme bio-pesticide dans les champs agricoles.

L'objectif de ce travail a été, dans un premier lieu, la poursuite des travaux réalisés au Laboratoire de Biotechnologies Marine et de l'Environnement en collaboration avec le Laboratoire Mer-Molécules-Santé de l'Université de Nantes, en axant l'étude sur les potentialités nutritionnelles et pharmacologiques de 24 espèces d'algues récoltées sur la côte de Sidi Bouzid. Pour cela, nous avons ciblé la recherche d'algues riches en lipide à haute valeur ajoutée, ainsi qu'une activité antiproliférative. Le deuxième volet de ce travail est axé sur l'étude de la possibilité d'utilisation des algues les plus actives *in vitro* comme agent antibactérien (*Bifurcaria bifurcata*, *Ellisolandiaelongata*, *Plocamium cartilagineum*, *Gracilaria cervicornis*, *Halopitys incurvus*, *Laminaria digitata*), en tant que bio-pesticide et biofertilisant vis-à-vis de la pourriture molle de la pomme de terre.

L'algue *Bifurcaria bifurcata* a été choisie pour sa richesse en contenu lipidique dans un premier temps. L'étude de l'activité antiproliférative par fractionnement biodirigé sur l'extrait lipidique de cette algue, a permis d'identifier une fraction contenant des monogalactosyldiacylglycérols (MGDG) possédant une importante activité antiproliférative contre les cellules humaines du cancer du poumon (NSCLC-N6 et A549) avec une  $CI_{50} < 12$   $\mu\text{g/mL}$ . Au vue de ces résultats, il convient d'identifier à présent précisément la nature des acides gras constituant le MGDG.

La composition en acide gras des lipides totaux des six algues étudiées a montré que l'algue brune *Bifurcaria bifurcata* possède le meilleur rapport d'acide gras polyinsaturés/acides gras saturés. Les acides gras polyinsaturés majoritaires sont l'acide arachidonique, l'acide linoléique et l'EPA. Pour la composition stérolique, nous retrouvons à plus de 90 % le fucostérol. Il est intéressant de noter que récemment, Santos et *al.* (2017) ont étudié les lipides neutres de l'algue cultivée *Bifurcaria bifurcata* et qu'ils ont retrouvé une composition en acide gras et stérol proche de ce que nous avons décrit. Cette algue semble donc même cultivée garde sa composition nutritionnelle intéressante. A savoir une belle proportion d'AGPI et un phytostérol !

## CONCLUSION GENERALE

Sur les 24 espèces d'algues étudiées (15 algues rouges, 6 algues brunes et 3 algues vertes), celles qui appartiennent au groupe des phéophycées et rhodophycées étaient les plus actives contre la pourriture molle de la pomme de terre, tandis que les chlorophycées ont montré une activité antibactérienne modérée. L'effet direct des extraits d'algue sur une infection des plantes de pomme de terre par *Dickeya dadantii* induit une élimination nette des symptômes de la pourriture molle et une amélioration de la croissance chez les plantes prétraitées par différentes concentrations d'extraits d'algues.

Par ailleurs l'élicitation avec des extraits d'algues (*Bifurcaria bifurcata*, *Ellisolandia elongata*, *Plocamium cartilagineum*, *Gracilaria cervicornis*, *Halopitys incurvus*, *Laminaria digitata*) semble intervenir en accélérant et en intensifiant l'enrichissement des plantes en peroxyde d'hydrogène vu son implication dans la cascade de signalisation, en peroxydase et en composés phénoliques pour stimuler les mécanismes de défenses. L'élicitation par les extraits d'algues intervient donc en renforçant les mécanismes de défense des plantes de pomme de terre vis-à-vis de *Dickeya dadantii*. Ceci est surtout observable pour les différents extraits d'algues marines à différentes concentrations.

**Références**  
**Bibliographiques**

## -A-

- ABD EL BAKY, H. H., EL BAZ, F. K., EL BAROTY, G. S., ASKER, M. M. S., IBRAHIM, E. A., 2014.** Phospholipids of some marine macroalgae : identification, antiviral, anticancer and antimicrobial bioactivities. *Pharma. Chem.* 6 : 370-382.
- ABOURAÏCHA, E., EL ALAOUI-TALIBI Z., EL BOUTACHFAITI R., PETIT E., COURTOIS B., COURTOIS J., EL MODAFAR C., 2015.** Induction of natural defense and protection against *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple fruit in response to bioelicitors isolated from green algae. *Sci. Hort.* 181 : 121-128.
- AGUILAR-BRISEÑO J. A., CRUZ-SUAREZ L. E., SASSI J. F., RICQUE-MARIE D., ZAPATA-BENAVIDES P., MENDOZA-GAMBOA E., RODRÍGUEZ-PADILLA C. TREJO-AVILA L. M., 2015.** Sulphated Polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* seaweeds both inhibit viral Attachment/Entry and Cell-Cell Fusion, in NDV Infection. *Mar. Drugs.* 13 : 697-712.
- AINANE, T., 2011.** Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*, Thèse de doctorat en chimie. Fac. Sci. Ben M'sik, Université Hassan II Casablanca, Maroc. 203pp.
- AL EASA, H. S., KORNPROBST, J., RIZK, A. M., 1995.** Major sterol composition of some algae from Qatar. *Phytochem.* 39(2) : 373-374.
- AMIRA, H., GHONAME, A., NAFEH, A., 2014.** Alleviation of Salt Stress Adverse Effect and enhancing phenolic anti-oxidant content of eggplant by seaweed extract March 2015, *Gesunde Pflanzen.* 67(1) : 21-31.
- AMORIM, R. N. S., RODRIGUES, J. A. G., HOLANDA, M. L., QUINDERE, A. L. G. PAULA, R. C. M., MELO, V. M. M., BENEVIDES, N. M. B., 2012.** Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria ornata*. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 55(2) : 171-181.
- APOSTOLIDIS, E., LEE, C. M., 2010.** *In vitro* potential of *Ascophyllum nodosum* phenolic antioxidant-mediated alpha-Glucosidase and alpha-amylase inhibition. *J. Food. Sci.* 75(3) : H97-102.
- ARA, J., SULTANA, V., QASIM, R., ETHESHAMUL-HAQUE, S., VIGAR UDDIN, A., 2005.** Biological activity of *Spatoglossum asperum*: a brown algae. *Phytother. Res.* 19 : 618-623.
- ARAUJO, L., STADNIK, M. J., 2013.** Cultivar-specific and ulvan-induced resistance of apple plants to *Glomerella* leaf spot are associated with enhanced activity of peroxidases. *Acta. Sci. Agron.* 35 : 287-293.
- ARIOLI, T., MATTNER, S. W., WINBERG, P. C., 2015.** Applications of seaweed extracts in Australian agriculture : past, present and future. *J. Appl. Phycol.* 27(5) : 2007-2015.
- ARNOULT, D., PETIT, F., LELIEVRE, J. D., AKARID, K., AMEISEN, J. C., ESTAQUIER, J., 2001.** Le récepteur de la phosphatidyl-sérine, un intermédiaire entre apoptose et réponse immunitaire. *Med. Sci.* 17 : 385-387.
- ARUNKUMAR, K., SELVAPALAM, N., RENGASAMY, R., 2005.** The antibacterial compound sulphoglycerolipid palmitoyl-3-O(6'-sulpho- $\alpha$ -quinovopyranosyl)-glycerol from *Sargassum wightii* Greville (Phaeophyceae). *Bot. Mar.* 40 : 441-445
- ARUNKUMAR, K., SIVAKUMAR, S., RENGASAMY, R., 2010.** Review of bioactive potential in seaweeds (Marine macroalgae) : A special emphasis on bioactivity of seaweeds against plant pathogens. *Asian J. Plant. Sci.* 9 : 227-240.

**ASHRAF, M., HARRIS, P. J. C., 2004.** Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant. Sci.* 166 : 3-16.

**AYYAD, O. B., ABDEL-HALIM, W. T., SHIER, T. R., HOYE, Z., 2003.** Cytotoxic hydroazulene diterpenes from the brown algae *Cystoseira myrica*. *Naturforsch.* 58(1-2) : 33-38.

**AYYAD, S. E., SALMA, M. O., MOKHTAR, A. H., ANTER, A. F., 2001.** Cytotoxic bicyclic diterpene from the brown algae *sargassium crispum*. *Biol. Chim. Fram.* 140 : 155-159.

**AZIZ, A., POINSSOT, B., DAIRE, X., ADRIAN, M., BEZIER, A., LAMBERT, B., JOUBERT, J. M., PUGIN, A., 2003.** Laminarin elicits defence responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmospora viticola*. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 16(12) : 1118-1128.

## -B-

**BA, K., TINE, E., DESTAIN, J., CISSE, N., THONART, P., 2010.** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14 : 131-139.

**BABAOUSMAIL, M., 2014.** Identification des algues du Sahara septentrional : L'effet des algues sur le stress salin (cas de la région de Ouargla). Master en Sciences Agronomiques. Fac. Sci. Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie. p62.

**BACON, M. A., THOMPSON, D. S., DAVIES, W. J., 1997.** Can cell wall peroxidase activity explain the leaf growth response of *Lolium temulentum* L. during drought ?. *J. Exp. Bot.* 48 : 2075-2085.

**BAIN, R. A., PEROMBELON, M. C. M., TSOR, L., NACHMIAS, A., 1990.** Blackleg development and tuber yield in relation to numbers of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* on seed potatoes. *Plant. Pathol.* 39 : 125-33.

**BARNATHAN, G., 1993.** Acides gras et stérols d'éponges marines du Sénégal et de Nouvelle-Calédonie, Thèse de Doctorat, Université de Nantes. p150-155.

**BARNATHAN, G., KORNPORST, J. M., DOUMENQ, P., MIRALLES, J., BOURY-ESNAULT, N., 1993.** Sponge fatty acids, 5. Characterization of complete series of 2-hydroxy long-chain fatty acids in phospholipids of two Senegalese marine sponges from the family Suberitidae: *Pseudosuberites* sp. and *Suberites massa*. *J. Nat. Prod.* 56 : 2104-13.

**BAUER, A., KIRBY, W., SHERRIS, W. M., TURK, C., 1966.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized disc method. *American. J. Clin. Pathol.* 45 : 493-495.

**BEDIN, P., 1988.** Les maladies provoquées par les bacteries du genre *Erwinia*. *Pomme. Terre. Fr.* 50(445) : 65-68.

**BEDOUX, G., HARDOUIN, K., BURLLOT, A. S., BOURGOUGNON, N., 2014.** Bioactive Components from Seaweeds : Cosmetic Applications and Future Development. *Adv. Bot. Res.* 71 : 349-382.

**BENHAMOU, N., REY, P., 2012.** Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection.* 92(1) : 1-35.

**BERDAY, N., 1989.** Contribution à l'étude écologique du phytobenthos de la zone littorale de la région d'El Jadida. Thèse de doctorat en Science. Fac. Sc. Rabat, Maroc. 170pp.

**BERENBAUM, M. R., 1995.** Turnabout is fair play : Secondary roles for primary compounds. *J. Chem. Ecol.* 21 : 925-940.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BHAKUNI, D. S., RAWAT, D. S., 2005.** Bioactive marine natural products. *Springer et Anamaya Publishers*. Pp 400.
- BI, F., IQBAL, S., ARMAN, M., ALI, A., HASSAN, M., 2011.** Carrageenan as an elicitor of induced secondary metabolites and its effects on various growth characters of chickpea and maize plants. *J. Saudi Chem. Soc.* 15(3) : 269-273.
- BLIGH, E. G., DYER, W. J., 1959.** A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37 : 912-917.
- BLOK, V. C., PYLYPENKO, L., PHILLIPS, M. S., 2006.** Molecular variation in the potato cyst nematode, *Globodera pallida*, in relation to virulence. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* 71 : 637-638.
- BLUNT, J. W., COPP, B. R., MUNRO, M. H. G., NORTHCOTE, P. T., PRINSER, M. R., 2006.** Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 23 : 26-78.
- BOOTH, E., 1969.** The manufacture and properties of liquid seaweed extracts. *Proc. Int. Seaweed Symp.* p655-662.
- BOUBONARI, T., MALEA, P., KEVREKIDIS, T., 2008.** The green seaweed *Ulva rigida* as a bioindicator of metals (Zn, Cu, Pb and Cd) in a low-salinity coastal environment. *Bot. Mar.* 51 : 472-484.
- BOUJABER, N., 2014.** Evaluation des potentialités pharmacologiques des deux algues marines *Gelidium sesquipedale* et *Laminaria ochroleuca* et valorisation des déchets industriels de *Gelidium sesquipedale*. Thèse de doctorat en Science. Fac. Sci. El Jadida, Maroc. 175pp.
- BOUJABER, N., OUMASKOUR, K., HASSOU, N., LAKHDAR, F., ASSOBEI, O., ETAHIRI, S., 2016.** Antimicrobial effect of two marine algae *Gelidium sesquipedale* and *Laminaria ochroleuca* collected from the coast of El Jadida-Morocco. *J. Bio. Innov.* 5(1) : 16-23.
- BOZORGI, H., 2012.** Effects of foliar spraying with marine plant *Ascophyllum nodosum* extract and nano iron chelate fertilizer on fruit yield and several attributes of eggplant (*Solanum melongena*). *Agricul. Biol. Sci.* 7 : 357-362.
- BRADFORD, M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72(1-2) : 248-254.
- BRUNETON, J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentation. 2<sup>ème</sup> Edition Lavoisier, Paris. p274-285.
- BUONAURO, R., MONTALBINI, P., 1995.** Tobacco mosaic virus induced systemic changes in the isoperoxidase pattern in tobacco leaves and the relation to acquired resistance to powdery mildew infection. *Phytopathol. Mediterr.* 34 : 184-191.
- BURTON, W. G., WIGGINTON, M. J., 1970.** The effect of a film of water upon the oxygen status of a potato tuber. *Potato. Res.* 13 : 150-186.

### -C-

- CABIOC'H, J., FLOC'H, J. Y., LE TOQUIN, A., BOUDOURESQUE, C. F., AMEINESZ, A., VERLAQUE, M., 1992.** Guide des algues des mers d'Europe, p12-18. *In* : Delachaux et Niestlé (eds.), *Algues des mers d'Europe*. Neuchâtel, Paris.
- CACCAMESE, S., AZZOLINA, R., 1979.** Screening for antimicrobial activities in marine algae from eastern Sicily. *Plant. Med.* 37 : 333-339.
- CACCAMESE, S., AZZOLINA, R., FURNARI, G., CORMAXI, M., GRASSO, S., 1980.** Antimicrobial and antiviral activities of extracts from Mediterranean algae. *Bot. Mar.* 23 : 285-288.

- CASTRO, J., VERA, J., GONZALEZ, A., MOENNE, A., 2012.** Oligo-carrageenans stimulate growth by enhancing photosynthesis, basal metabolism, and cell cycle in tobacco plants (var. Burley). *J. Plant. Growth. Regul.* 31 : 173-185.
- CHANDIA, N. P., MATSUHIRO, B., 2008.** Characterization of a fucoidan from *Lessonia vadosa* (Phaeophyta) and its anticoagulant and elicitor properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 42 : 235-240.
- CHARKOWSKI, A., 2006.** The soft rot *Erwinia*, p 423-505. In : S. S. Gnanamanickam (eds.), *Plant Associated Bacteria Part 3*. Springer, Netherlands.
- CHIBANE, A., 1999.** Techniques de Production de la pomme de terre au Maroc. Transfert de technologie en agriculture. *Bull. Trans. Technol.* 52 : 1-4.
- CHMIELEWSKA, E., MEDVED, J., 2001.** Bioaccumulation of heavy metals by green algae *Cladophora glomerata* in a refinery sewage lagoon. *Croatica. Chemica. Acta.* 74(1) : 135-145.
- CHOPIN, T., WHALEN, E., 1993.** A new rapid method for carrageenan identification by FT IR diffuse reflectance spectroscopy directly on dried, ground algal material. *Carbohydrate Res.* 246 : 51-59.
- CHOUIKHI, A., 2013.** Les applications potentielles des macroalgues marines et les activités pharmacologiques de leurs métabolites. *Proc. Int. Congr. Popul. Ani. Commu.* VI. p1-40.
- CHRIST, B. C., CHRIST, B., AND SCHULTZ, O. E., 1998.** Identifying potato diseases in pennsylvania. Pennstate, the Pennsylvania State University. p1-24.
- CIAN, R. E., MARTINEZ-AUGUSTIN, O., DRAGO, S. R., 2012.** Bioactive properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis from protein byproducts of *Porphyra columbina*. *Food. Res. Int.* 49 : 364-372.
- CIROU, A., UROZ, S., CHAPELLE, E., LATOUR, X., ORANGE, N., FAURE, D., DESSAUX, Y., 2009.** Quorum sensing as a target for novel biocontrol strategies directed at *Pectobacterium*, p121-131. In : U. I. Chet and M. L. Gullino (eds.), *Recent developments in management of plant diseases*. Springer, Dordrecht.
- CLERIVET, A., ALAMI, I., BRETON, F., GARCIA, D., SANIER, C., 1996.** Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta. Bot. Gallica.* 143(6) : 531-538.
- CLUZET, S., TORREGROSA, C., JACQUET, C., LAFITTE, C., FOURNIER, J., MERCIER, L., SALAMAGNE, S., BRIAND, X., ESQUERRE-TUGAYE, M. T., DUMAS, B., 2004.** Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from the green alga *Ulva spp.* *Plant. Cell. Environ.* 27 : 917-928.
- COLOMBO, D., COMPOSTELLA, F., RONCHETTI, F., SCALA, A., TOMA, L., TOKUDA, H., NISHINO, H., 1999.** Chemoenzymatic synthesis and antitumor promoting activity of 6'- and 3'-esters of 2-O-beta- D-glucosylglycerol. *Bioorg. Med. Chem.* 7 : 1867-1871.
- CONRATH, U., BECKERS, G. J. M., FLORS, V., GARCIA-AGUSTIN, P., JAKAB, G., MAUCH, F., NEWMAN, M. A., PIETERSE, C. M. J., POINSSOT, B., POZO, M. J., PUGIN, A., SCHAFFRATH, U., TON, J., WENDEHENNE, D., ZIMMERLI, L., MAUCH-MANI, B., 2006.** Priming: Getting Ready for Battle. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 19 : 1062-1071.
- CONSTABEL, C. P., LYNN, Y., PATTON, J. J., CHRISTOPHER, M. E., 2000.** Polyphenol Oxidase from Hybrid Poplar. Cloning and Expression in Response to Wounding and Herbivory. *Plant. Physiol.* 124 : 285-295.
- CORCUFF, R., MERCIER, J., TWEDDELL, R., ARUL, J., 2011.** Effect of water activity on the production of volatile organic compounds by *Muscodor albus* and their effect on three pathogens in stored potato. *Fungal. Biol.* 115 : 220-227.

**CRAIG, J. S., KERBY, K. B., STEIN, B. D., SOMMERVILLE, S. C., 1995.** Expression of an extracellular peroxidase that is induced in barley (*Hordeum vulgare*) by the powdery mildew pathogen (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 47 : 407-418.

**CRAIGIE, J. S., 2010.** Biology of the red algae, p221-259. In : K. M. Cole and R. G. Sheath (eds.), Cell walls. Cambridge, University Press, Royaume-Uni.

**CRAIGIE, J. S., 2011.** Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *J. Appl. Phycol.* 23:371-393.

**CROZIER, A., CLIFFORD, M. N., ASHIHARA, H. 2006.** Plant Secondary Metabolites, p1-341. In : A. Crozier, M. N. Clifford and H. Ashihara (eds.), Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

**CZAJKOWSKI, R., PEROMBELON, M. C. M., VAN VEEN, J. A., VAN DER WOLF, J. M., 2011.** Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species. *Rev. Plant. Pathol.* 60 : 999-1013.

### -D-

**DARNE, G., MADERO-TAMARGO, J., 1979.** Mise au point d'une méthode d'extraction des lipides solubles totaux, des glucides solubles totaux et des composés phénoliques solubles totaux des organes de la vigne. *Vitis.* 18 : 221-228.

**DAWCZYNSKI, C., SCHUBERT, R., JAHREIS, G., 2007.** Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food. Chem.* 103 : 891-899.

**DYE, D. W., 1969.** A taxonomic study of the genus *Erwinia*. II. The "*carotovora*" group. *New Zealand Journal of Science.* 12 : 81-87.

**DE BOER, S. H., 1994.** Prospects for control of potato diseases caused by pectolytic *Erwinias*, p136-148. In: G.W. Zehnder, M. L. Powelson, R. K. Jansson and K. Y. Raman (eds.), Advances in potato pest biology and management. APS Press, St Paul, Minnesota.

**DE BOER, S. H., 2002.** Relative incidence of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in stolon end and peridermal tissue of potato tubers in Canada. *Plant. Dis.* 86 : 960-4.

**DE FREITAS, M. B., FERREIRA, L. G., HAWERROTH, C., DUARTE, M. E. R., NOSEDA, M. D., STADNIK, M. J., 2015.** Ulvans induce resistance against plant pathogenic fungi independently of their sulfation degree. *Carbohydr. Polym.* 133 : 384-390.

**DE MENDONÇA, M., STANGHELLINI, M. E., 1979.** Endemic and soilborne nature of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*, a pathogen of mature sugar beets. *Phytopathol.* 69 : 1096-9.

**DE OLIVEIRA, M. N., PONTE FREITAS, A. L., URANO CARVALHO, A. F., TAVARES SAMPAIO, T. M., FARIAS, D. F., ALVES TEIXEIRA, D. I., GOUVEIA, S. T., GOMES PEREIRA, J., DE CASTRO CATANHO DE SENA, M. M., 2009.** Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará. *Brazil. Food. Chem.* 115 : 254-259.

**DE REVIERS, B., 2003.** Biologie et phylogénie des algues, cours tome 2, Edition Belin n° 003512-01. France. 253pp.

**DEHPOUR, A. A., IBRAHIMZADEH, M. A., SEYED FAZEL, N., SEYED MOHAMMAD, N., 2009.** Antioxydant activity of the methanol extract of *Ferulaaassafoetida* and its essential oil composition. *Grasas. Aceites.* 60 : 405-412.

**DELATTRE, C., MICHAUD, B., COURTOIS, B., COURTOIS, C., 2005.** Oligosaccharides engineering from plants and algae applications in biotechnology and therapeutics. *Minerva. Biotec.* 17 : 107-117.

**DELGADO, Z. D., FREITAS, M. B., STADNIK, M. J., 2013.** Effectiveness of saccharin and ulvan as resistance inducers against rust and angular leaf spot in bean plants (*Phaseolus vulgaris*). *Crop. Prot.* 47 : 67-73.

**DEMBITSKY, V. M., ROZENTSVET, O. A., 1996.** Distribution of polar lipids in some marine, brackish and freshwater green macrophytes, *Phytochem.* 41(2) : 483-488.

**DEMIR, N., BERRIN, D., KEVSER, Y., 2006.** Effect of seaweed suspensions on seed germination of tomato, pepper and aubergine. *J. Biol. Sci.* 6 : 1130-1133.

**DESENDER, S., ANDRIVON, D., VAL, F., 2007.** Activation of defence reactions in Solanaceae : where is the specificity?. *Cell. Microbiol.* 9 : 21-30.

**DICKEY, R. S., ZUMOFF, C. H., UYEMOTO, J. K., 1984.** *Erwinia chrysanthemi* : Serological relationships among strain from several hosts. *Phytopathol.* 11 : 1388-1394.

**DIDIER A. J., CAS, G., 1967.** Dosage des éléments minéraux chez les végétaux, Office de la recherche scientifique et technique outre-mer (ORSTOM). Bondy, France. p70-74.

**DONG, H. L., JEONG, A. L., JUNEOK, L., EUNJUNG, R., KYUSUK, J., MINSEON, C., CHANGSIK, O., SANGRYEOL, R., JONGCHUL, Y., SUNGGI, H., 2013.** Characterization of genes required for the pathogenicity of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Pcc21 in Chinese cabbage. *Microbiology.* 159 : 1487-1496.

**DOWHAN, W., BOGDANOV, M., 2002.** Functional roles of lipids in membranes. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes, 4<sup>th</sup> Edition Texas, États-Unis. p36 : 1-36.

**DOYEN, A., BRITTEN, M., 2011.** Les effets santé des hydrolysats protéiques. BioVeille® Nutrition humaine. *BV.* 11-6.

**DU JARDIN, P., 2015.** Plant biostimulants : Definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* 196(30) : 3-14.

**DUARTE, V., DE BOER, S. H., WARD, L. J., DE OLIVEIRA, A. M. R., 2004.** Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 96 : 535-545.

**DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., SMITH, F., 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28(3) : 35.

**DUMAY, J., MORENO, C. D., BARNATHAN, G., JAOUEN, P., BERGE, J. P., 2006.** Improvement of lipid and phospholipid recoveries from sardine (*Sardina pilchardus*) viscera using industrial proteases. *Process. Biochem.* 41(11) : 2327-2332.

## -E-

**EASTMOND, J. P., QUETTIER, A. L., KROON, T. M. J., CRADDOCK, C., ADAMS, N., SLABAS, R. A., 2010.** Phosphatidic acid phosphohydrolase 1 and 2 regulate phospholipid synthesis at the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis*. *Plant. Cell.* 22 : 2796-2811.

**EGORIN, M. J., ROSEN, D. M., BENJAMIN, S. E., CALLERY, P. S., SENTZ, D. L., EISEMAN, J. L., 1997.** *In vitro* metabolism by mouse and human liver preparations of halomon, an antitumor halogenated monoterpene. *Cancer. Chemother. Pharmacol.* 41 : 9-14.

**EL BAZ, F. K., IBRAHIM, A., ABD EL BAKY, H., 2014.** Cytotoxicity, antioxidants and antimicrobial activities of crude lipids extracted from some marine algae. *J Aquac. Res. Development.* 284(1-5) : 1-5.

**EL GAMAL, A. A., 2010.** Biological importance of marine algae. *Saudi. Pharm. Jl.* 18(1) : 1 - 25.

- EL MODAFAR, C., TANTAOUI, A., EL BOUSTANI, E., 2000.** Changes in cell wall-bound phenolic compounds and lignin in roots of date palm cultivars differing in susceptibility to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *J. Phytopathol.* 148 : 405-411.
- EL MODAFAR, C., ELGADDA, M., EL BOUTACHFAITI, R., ABOURAICHA, E., ZEHAR, N., PETIT, E., EL ALAOUI-TALIBI, Z., COURTOIS, B., COURTOIS, J., 2012.** Induction of natural defence accompanied by salicylic acid-dependant systemic acquired resistance in tomato seedlings in response to bioelicitors isolated from green algae. *Sci. Hortic.* 138 : 55-63.
- ELKOURI, A., 2004.** Recherche des propriétés : antibactérienne, antifongique, et antiinflammatoire de quatourz espèces d'algues marines récoltées sur la côte d'El Jadida (Côte Atlantique Marocaine). Thèse de doctorat en Science. Fac. Sci. Kénitra, Maroc. pp 138.
- ELOUTASSI, N., LOUASTE, B., 2012.** *In vitro* study anti-*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* from *Cystoseira tamariscifolia*. Science Lib Editions Mersenne. 4 : 120908 ISSN 2111-4706.
- ELPHINSTONE, J. G., PEROMBELON, M. C. M., 1986a.** Contamination of potatoes by *Erwinia carotovora* during grading. *Plant. Pathol.* 35 : 25-33.
- ELPHINSTONE, J. G., PEROMBELON, M. C. M., 1986b.** Contamination of progeny tubers of potato plants by seed- and leaf-borne *Erwinia carotovora*. *Potato. Res.* 29 : 77-93.
- EL-WAHIDI, M., EL-AMRAOUI B., FASSOUANE, A., BAMHAOUD, T., 2013.** Bio-guided isolation of an antifungal from *Haliclona enamela* collected from Jorf Lasfar port, Morocco. *J. Mycol. Med.* 23(2) : 91-96.
- ERIS, A., SIRRITEPE, H. O., SIRRITEPE, N., 2008.** The effect of seaweed (*Ascophyllum nodosum*) extract on yield and quality criteria in pipers. *Acta. Hort.* 412 : 733-737.
- ERWIN, D. C., TSAI, S. D., KHAN, R. A., 1976.** Reduction of the severity of *Verticillium* wilt of cotton by the growth retardant, Tributyl (5 chloro-2-thienyl methyl) phosphonium chloride. *Phytopathol.* 66 : 106-10.
- ESPELIE, K. E., FRANCESHI, V. R., KOLATTUKUDY, P. E., 1986.** Immunocytochemical localization and time course of appearance of an anionic peroxidase associated with suberization in wound-healing potato tuber tissue. *Plant. Physiol.* 87 : 487-492.
- ETAHIRI, S., BUTEL-PONCE, V., CAUX, C., GUYOT, M., 2001.** New bromoditerpenes from red *Sphaerococcus coronopifolius*. *J. Nat. Prod.* 64 : 1024-1027.
- ETAHIRI, S., BUTEL-PONCE, V., ELKOURI, A., ASSOBBHEI, O., ZAOU, D., GUYOT, M., 2003.** Antibacterial activities of Marine algae from the Atlantic Coast of Morocco. *Mar. Life.* 13(1-2) : 3-9.
- ETAHIRI, S., EL KOURI, A., BUTEL-PONCE, V., GUYOT, M., ASSOBBHEI, O., 2007.** Antibacterial bromophenol from the marine red algae *Pterosiphonia complanata*. *Nat Prod Commun.* 7 : 749-752.
- 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-

- FAN, D., 2011.** *Ascophyllum nodosum* extracts improve shelf life and nutritional quality of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Thèse de doctorat en Science. Fac. Sci. Halifax, Canada. pp148.
- FAO. 2004.** Fisheries Department, "Fishery Information, Data and Statistics Unit. Fish stat Plus. Universal Software for fishery statistical time series". Version 2.3. Food and Agriculture Organisation. United Nations. Rome. Italy.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- FAO. 2016.** Maroc : Maroc agriculture : Pomme De Terre -Production (Tonnes). *Actualitix*.
- FARAJ, A., 1987.** Contribution à une étude quantitative et qualitative des protéines de l'agarophyte *Gelidium sesquipedale* (Turner) Thuret. Thèse de doctorat en Science. Fac. Sci. Agdal, Raba, Maroc. p16-17.
- Fardeau J. C., Jonis, M., 2004.** Phytostimulants et éliciteurs pour végétaux : propriétés et garanties réglementaires. *Alter. Agri.* 65 : 21-24.
- FARID, Y., CHENNAOUI, M., ASSOBEI, O., ETAHIRI, S., 2012.** Screening des algues marines d'oualidia à la recherche d'activités antimicrobienne et anti-inflammatoire. *Rev. Microbiol. Ind. San. Environn.* 6(2) : 192-209.
- FELDMANN, J., 1955.** La zonation des algues sur les côtes atlantique du Maroc. *Bull. Soci. Sci. Nat. Phy. Maroc.* 35 : 9-17.
- FERUS, P., ARKOSIOVA, M., 2001.** Variability of chlorophyll content under fluctuating environment. *Acta. Fytotechn. zootechn.* 4 : 5-9.
- FITZGERALD, C.N., GALLAGHER, E., TASDEMIR, D., HAYES, M., 2011.** Heart health peptides from macroalgae and their potential use in functional foods. *J. Agric. Food. Chem.* 59 : 6829-6836.
- FLEURENCE, J., 1999.** Seaweed proteins : biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends. Food. Sci. Technol.* 10 : 25-28.
- FRANZ, G., ANTJE, L., JUTTA W., JOHANNES F. I., 2012.** Dual effect of macroalgae extracts on growth of bacteria in western baltic sea. *Rev. Biol. Mar.Oceanogr.* 47(1) : 75-86
- FREITAS, M. B., STADNIK, M. J., 2012.** Race-specific and ulvaninduced defense responses in bean (*Phaseolus vulgaris*) against *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 78 : 8-13.
- FRENEY, J., RENAUD, F., HANSEN, W. BOLLET, C., 1992.** Manuel de bactériologie clinique ELSEVIER Collection Option Bio. 1 : 79-143.

## -G-

- GAJATE, C., FONTERIZ, R.I., CABANIER, C., ALVAREZ-NOVES, G., ALVAREZ-RODRIGUEZ, Y., MODOLELL, M., MOLLINEDO, F., 2000.** Intracellular triggering of Fas, independently of FasL, as a new mechanism of antitumor ether lipid-induced apoptosis. *Int. J. Cancer.* 85 : 674-682.
- GARDAN, L., GOUY, C., CHRISTEN, R., SAMSON, R., 2003.** Elevation of three subspecies of *Pectobacterium carotovorum* to species level : *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53 : 381-391.
- GARON-LARDIERE, S., 2004.** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonne maisoniales). Thèse de doctorat en chimie. Fac. Sci. Université de bretagne occidentale, France. 332p.
- GAUTHIER J., 1991.** Notions d'agriculture : le sol, les cultures, les élevages, l'économie et la gestion. Edition Tech, Doc Lavoisier. Paris, France. 575pp.
- GEBHARDT, S. E., THOMAS, R. G., 2002.** Nutritive value of foods. *Depart. Agri. Home. Gard. Bull.* Beltsville, Maryland, United States. 72 : 1-95.
- GERWICK, W. H., ROBERTS, M. A., VULPANOVICI, A., BALLANTINE, D. L., 1999.** Biogenesis and biological function of marine algal oxylipins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 447 : 211-218.

**GEVAERT, F., 2001.** Importance des facteurs de l'environnement et du phénomène de photoinhibition sur la production des grandes algues marines, Thèse de doctorat en Science. Univ. Sci. Technol. Lille, France. 150pp.

**GLASNER, J. D., MARQUEZ-VILLAVICENCIO, M., KIM, H. S., JAHN, C. E., MA, B., BIEHL, B. S., RISSMAN, A. I., MOLE, B., YI, X., YANG, C. H., DANGL, J. L., GRANT, S. R., PERNA, N. T., CHARKOWSKI, A. O., 2008.** Niche-Specificity and the Variable Fraction of the *Pectobacterium* Pan- Genome. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 21 : 1549-1560.

**GOAD, L.J., AKIHISA, T., 1997.** Analysis of Sterols. Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall, London, UK.

**GOËMAR., 2012.** Iodus 2 Cultures Spécialisées. Stimulateur de défense du fraisier contre l'oïdium du pommier et du poirier contre le feu bactérien Available at : <http://www.goemar.com/download/33/2/presentation/product-data-sheet-33.html>. Accessed on : August 1, 2012.

**GOSCH, B. J., MAGNUSSON, M., PAUL, N. A., DE NYS, R., 2012.** Total lipid and fatty acid composition of seaweeds for the selection of species for oil-based biofuel and bioproducts. *GCB. Bioenergy.* 4 : 919-930.

**GRAHAM, D. C., HARRISON, M. D., 1975.** Potential spread of *Erwinia* spp. in aerosol. *Phytopathol.* 65 : 739-41.

**GRESSLER, V., YOKOYA, N. S., FUJII, M.T., COLEPICOLO, P., FILHO, J. M., TORRES, R. P., PINTO, E., 2010.** Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food. Chem.* 120 : 585-590.

**GUPTA, S., ABU-GHANNAM, N., 2011.** Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends. Food. Sci. Technol.* 22 : 315-326.

**GUSKOV, A., KERN, J., GABDULKHAKOV, A., BROSER, M., ZOUNI, A., SAENGER, W., 2009.** Cyanobacterial photosystem II at 2.9 Å resolution and the role of quinones, lipids, channels and chloride. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 16 : 334-342.

## -H-

**HADAS, R., KRITZMAN, G., GEFEN, T., MANULIS, S., 2001.** Detection, quantification and characterization of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* contaminating pepper seeds. *Plant. Pathol.* 50 : 117-123.

**HAJHAMED, A. A., SAYED, W. M. A. E., YAZIED, A. A. E., GHAFFAR, N. Y. A. E., 2007.** Suppression of bacterial soft rot disease of potato. *Egypt. J. Phytopathol.* 35(2) : 69-80.

**HAMMERSCHMIDT, R., 2009.** Systemic acquired resistance. *Euphytica.* 2 : 237-243.

**HANASHIMA, S., MIZUSHINA, Y., YAMAZAKI, T., OHTA, K., TAKAHASHI, S., KOSHINO, H., SAHARA, H., SAKAGUCHI, K., SUGAWARA, F., 2000.** Structural determination of sulfoquinovosyldiacylglycerol by chiral syntheses. *Tetrahedron. Lett.* 41 : 4403-4407.

**HANIF, N., CHAIR, M., IDRISSE, M. C., NAOKI, T., 2014.** L'exploitation des algues rouges *Gelidium* dans la région d'El-Jadida : aspects socio-économiques et perspectives. *Afr. Sci.* 10(1) : 103-126.

**HAUBEN, L., MOORE, E. R. B., VAUTERIN, L., STEENACKERS, M., MERGAERT, J., VERDONCK, L., SWINGS, J., 1998.** Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Syst. Appl. Microbiol.* 21 : 384-397.

**HELIA, V., 2008.** *Pectobacterium* spp. et *Dickeya* spp. de la pomme de terre : nouvelle nomenclature pour *Erwinias* pp., symptomatologie, épidémiologie et prophylaxie. *Cah. Agric.* 17(4) : 349-354.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**HELIAS, V., ANDRIVON, D., JOUAN, B., 2000a.** Development of symptoms caused by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* under field conditions and effects of these symptoms on the yield of individual potato plants. *Plant. Pathol.* 49 : 23-32.

**HELIAS, V., ANDRIVON, D., JOUAN, B., 2000b.** Internal colonisation pathways of potato plants by *Erwiniacarotovora* subsp. *atroseptica*. *Plant. Pathol.* 49 : 33-42.

**HOLDEN, D. W., ROHRINGER, R., 1985.** Peroxidases and glycosidases in intercellular fluids from noninoculated and rust-affected wheat leaves. *Plant. Physiol.* 79 : 820-824.

**HOLDT, L. S., KRAAN, S., 2011.** Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *J. Appl. Phycol.* 23 : 543-597.

**HOUSTI, F., ANDARY, C., GARGADENNE, A., AMSSA, M., 2002.** Effects of wounding and salicylic acid on hydroxycinnamocylmalic acids in *Thunbergia alata*. *Plant. Physiol. Biochem.* 40 : 761-769.

**HURTADO, A. Q., YUNQUE, D. A., TIBUBOS, K., CRITCHLE, Y., 2009.** Use of Acadian marine plant extract powder from *Ascophyllum nodosum* in tissue culture of Kappaphycus varieties. *J. Appl. Phycol.* 21 : 633-639.

**HYMAN, L. J., TOTH, I. K., PEROMBELON, M. C. M., 2002.** Methods for the detection and quantification of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*) on potatoes : a laboratory manual: Isolation and identification, Scottish Crop Research Institute, Occasional Publication No.10I, nvergowie, Dundee DD2 5DA, Scotland, UK. 80p.

**HWANG, H., CHEN, T., NINES, R. G., SHIN, H. C., STONER, G. D., 2006.** Photochemoprevention of UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice by brown algae polyphenols. *Int. J. Cancer* 119 : 2742-2749.

### -I-

**IGNAT, C. M., 2012.** Compatibilité et co-structuration dans des systèmes contenant des scléroprotéines et des polysaccharides. Thèse de doctorat en Chimie des polymers. UFR Sci. Tech. Pau, France. 79p.

**ILLIJAS, I. M., INDY, J. R., YASUI, H., ITABASHI, I., 2009.** Lipid and fatty acid composition of a little known and rarely collected *Exophyllum wentii* Weber-van Bosse from Bali island, Indonesia. *J. Oleo. Sci.* 58(3) : 103-110.

**INUI, H., YAMAGUCHI, Y., HIRANO, S., 1997.** Elicitor actions of N-acetylchitooligosaccharides and laminarioligosaccharides for chitinase and L-phenylalanine ammonia-lyase induction in rice suspension culture. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 61 : 975-978.

**ISHIHARA, K., MURATA, M., KANENIWA, M., SAITO, H., SHINOHARA, K., YAMAMOTO, M., 1998.** Inhibition of icosanoid production in MC/9 mouse mast cells by n-3 polyunsaturated fatty acids isolated from edible marine algae. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 62 : 1412-1415.

**ISMAIL, H., LEMRISS, S., BEN AOUN, Z., MHADHEBI, L., DELLAI, A., KACEM, Y., BOIRON, P., BOURAOUI, A., 2008.** Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean sea cucumber, *Holoturia polii*. *J. Med. Mycol.* 18:23-26.

### -J-

**JANSE, J. D., RUISSEN, M. A., 1988.** Characterization and classification of *Erwinia chrysanthemi* strains from several hosts in the Netherlands. *Phytopathol.* 78 : 800-8.

**JANSE, J. D., SPIT, B. E., 1989.** A note on the limitations of identifying soft rot erwinias by temperature tolerances and sensitivity to erythromycin on a pectate medium. *J. Phytopathology.* 125 : 265-268.

**JAULNEAU, V., LAFITTE, C., CORIO-COSTET, M. F., STADNIK, M. J., SALAMAGNE, S., BRIAND, X., ESQUERRE-TUGAYE, M. T., DUMAS, B., 2011.** An *Ulva armoricana* extract protects plants against powdery mildew pathogens. *Eur. J. Plant. Pathol.* 131 : 393-401.

**JAULNEAU, V., LAFITTE, C., JACQUET, C., FOURNIER, S., SALAMAGNE, S., BRIAND, X., ESQUERRE-TUGAYE, M. T., DUMAS, B., 2010.** Ulvan, a sulfated polysaccharide from green algae, activates plant immunity through the jasmonic acid pathway. *J. Biomed. Biotechnol.* ID 525291, 11. Doi : 10.1155/2010/525291.

**JENSEN, E., 2004.** Seaweed : fact or fancy ?. *Organic BroadCaster.* 12(3) : 164-170.

**JIAO, G., YU, G., ZHANG, J., EWART, H. S., 2011.** Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Mar. Drugs.* 9 : 196-223.

**JIN, J. O., ZHANG, W., DU, J. Y., WONG, K. W., ODA, T., YU, Q., 2014.** Fucoïdan can function as an adjuvant *in vivo* to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T cell immune responses. *PLoS One.* 9(6) : e99396.

**JOKO, T., HIRATA, H., TSUYUMU, S., 2007.** Sugar transporter (MfsX) of the major facilitator superfamily required for flagella-mediated pathogenesis in *Dickeya dadantii* 3937. *J. Gen. Plant. Pathol.* 73 : 266-273.

**JOLIVET, E., LANGLAIS-JEANNIN, I., MOROT-GAUDRY, J. F., 1991.** Les extraits d'algues marines : propriétés phytoactives et intérêt agronomique. *Annee. Biol.* 30 : 109-126.

## -K-

**KATES, M., 1986.** Techniques of lipidology : isolation, analysis and identification of lipids, p100-112. In : R. H. Burdon and P. H. van Knippenberg (eds.), Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Elsevier, Amsterdam.

**KENDEL, M., 2012.** Lipides de l'algue rouge comestible *Grateloupia turuturu* et recherche de composés originaux, et à potentialité de valorisation en santé et en nutrition. Thèse De Doctorat en physico-chimie des lipides marins biologiquement actifs, Fac. Sci. Pharm. Biol. Nantes, France. 162pp.

**KENDEL, M., WIELGOSZ-COLLIN, G., BERTRAND, S., ROUSSAKIS, C., BOURGOUGNON, N., BEDOUX, G., 2015.** Lipid composition, fatty acids and sterols in the seaweeds *Ulva armoricana*, and *Solieria chordalis* from Brittany (France): An analysis from nutritional, chemotaxonomic, and antiproliferative activity perspectives. *Mar. Drugs.* 13 : 5606-5628.

**KETTANI HALABI, M., 2012.** Etude de la diversité de *Pectobacterium* spp. et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Thèse de doctorat en Science. Fac.Sci. Université Hassan II, Mohammedia, Maroc. 219pp.

**KHAN, W., HILTZ, D., CRITCHLEY, A.T., PRITHIVIRAJ, B., 2011.** Bioassay to detect *Ascophyllum nodosum* extract-induced cytokinin-like activity in *Arabidopsis thaliana*. *J. Appl. Phycol.* 23 : 409-414

**KHAN, W., RAYIRATH, U. P., SUBRAMANIAN, S., JITHESH, M. N., RAYORATH, P., HODGES, M., CRITCHLEY, A. T., CRAIGIE, J. S., NORRIE, J., PRITHIVIRAJ, B., 2009.** Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *J. Plant. Growth. Regul.* 28 : 386-399.

**KHOTIMCHENKO, S. V., 2003.** Distribution of glyceroglycolipids in marine algae and grasses. *Chem. Nat. Compd.* 38(3) : 223-229.

**KHOTIMCHENKO, S. V., KULIKOVA, I. V., 1999.** Lipids of two species of brown algae of the genus *Laminaria*. *Chem. Nat. Compd.* 35 : 17-20.

- KHOZIN-GOLDBERG, I., BOUSSIBA, S., 2011.** Concerns over the reporting of inconsistent data on fatty acid composition for microalgae of the genus *Nannochloropsis* (Eustigmatophyceae). *J. Appl. Phycol.* 23(5) : 933-934.
- KHOZIN-GOLDBERG, I., YUA, H. Z., ADLERSTEINA, D., DIDI-COHEN, S., HEIMER, Y. M., COHEN, Z., 2000.** Triacylglycerols of the red microalga *Porphyridium cruentum* can contribute to the biosynthesis of eukaryotic galactolipids. *Lipids.* 35 : 881-889.
- KIM, K. K., SEO, S. S., KIM, J. E., SUNG, S. K., KWAN, J. S., AN, G., KIM, W. T., 2001.** Two polyphenol oxidases are differentially expressed during vegetative and reproductive development and in response to wounding in the Fuji apple. *Plant. Sci.* 161 : 1145-1152.
- KIM, S. K., TA, Q. V., 2011.** Potential beneficial effects of marine algal sterols on human health. *Adv. Food. Nut. Res.* 64 : 191-198.
- KIM, Y. H., CHOI, Y. K., PARK, J., LEE, S., YANG, Y. H., KIM, H. J., PARK, T. J., HWAN KIM, Y., LEE, S. H., 2011.** Ionic liquid-mediated extraction of lipids from algal biomass. *Bioresource. Technol.* 109 : 312-315.
- KJELDHAL, J., 1883.** Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Z. Anal. Chem.* 22 : 366-382.
- KLADI, M., XENAKI, H., VAGIAS, C., PAPAZAFIRI, P., ROUSSIS, V., 2006.** New cytotoxic sesquiterpenes from the red algae *Laurencia obtusa* and *Laurencia microcladia*. *Tetrahedron Letters.* 62(1) : 182-189.
- KLARZYNSKI, O., DESCAMPS, V., PLESSE, B., YVIN, J. C., KLOAREG, B., FRITIG, B., 2003.** Sulfated fucan oligosaccharides elicit defense responses in tobacco and local and systemic resistance against tobacco mosaic virus. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 16 : 115-122.
- KLARZYNSKI, O., PLESSE, B., JOUBERT, J. M., YVIN, J. C., KOPP, M., KLOAREG, B., FRITIG, B., 2000.** Linear  $\beta$ -1, 3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant. Physiol.* 124 : 1027-1038.
- KOBAYASHI, A., KOGHUCHI, Y., KANZAKI, H., KAJIYAMA, S. L., KAWAZU, K., 1994.** A new type of antimicrobial phenolics produced by plant peroxidase and its possible role in the chemical defense systems against plant pathogens. *Z. Naturforsch.* 49 : 411-414.
- KOTAKE, N., KUSHIRO, M., ZHANG, H., SUGAWARA, T., MIYASHITA, K., NAGAO, A., 2001.** Carotenoids affect proliferation of human prostate cancer cells. *J. Nutr.* 131(12) : 3303-3306.
- KUC, J., 2006.** What's old and what's new in concepts of induced systemic resistance in plants and its application, p9-20. In : T. Tuzun and E. Bent (eds.), *Multigenic and induced systemic resistance in plants.* Springer, USA.
- KUMAR, C .S., DRONAMRAJU, V.L. S., RAMASAMY, R., 2008.** Seaweed extracts control the leaf spot disease of the medicinal plant *Gymnema sylvestre*. *Indian. J. Sci. Technol.* 1(3) : 1-5.
- KUMAR, G., SAHOO, D., 2011.** Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. *J. Appl. Phycol.* 23(2) : 251-255.
- KURATKO, C. N., BECKER, S. A., 1998.** Dietary lipids alter fatty acid composition and PGE2 production in colonic lymphocytes. *Nutr. Cancer.* 31 : 56-61.
- KUWABARA, T., KATOH, Y., 1999.** Involvement of the binuclear copper site in the proteolytic activity of polyphenol oxidase. *Plant. Cell. Physiol.* 40 : 1029-1035.
- KUWABARA, T., MASUDA, T., AIZAWA, S., 1997.** A dithiothreitol-sensitive tetrameric protease from spinach thylakoids has polyphenol oxidase activity. *Plant. Cell. Physiol.* 38 : 179-187.

**KWON, M. J., NAM, T. J., 2007.** A polysaccharide of the marine alga *Capsosiphon fulvescens* induces apoptosis in AGS gastric cancer cells via an IGF-IR-mediated PI3K/Akt pathway. *Cell. Biol. Int.* 31 : 768-775.

### -L-

**LAMB, C., DIXON, R. A., 1997.** The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 48 : 251-275.

**LATOURE, X., FAURE, D., DIALLO, S., CIROU, A., SMADJA, B., DESSAUX, Y., ORANGE, N., 2008.** Lutte contre les maladies bactériennes de la pomme de terre dues aux *Pectobacterium* spp. (*Erwinia carotovora*). *Cah. Agric.* 4 : 355-360.

**LAUMONNIER R., 1979.** Cultures légumières et maraichères, tome 3, Edition Baillière et fils. Paris, France. 274pp.

**LAURILA, J., LEHTINEN, A., AHOLA, V., PASANEN, M., HANNUKALA, A., PIRHONEN, M., 2007.** Characterisation of *Dickeya* (*Erwinia chrysanthemi*) strains causing potato blackleg and soft rot in Finland, p34. In : A. Hannukkala and M. Segerstedt (eds.), New and old pathogens of potato in changing climate. Proceedings of the EAPR Pathology Section seminar. Hattula : MTT, Agrifood Research, Finland.

**LEE R.E., 1989.** Phycology. Cambridge, UK : Cambridge University Press. 645 p.

**LEE, Y. S., SHIN, K. H., KIM, B. K., LEE, S., 2004.** Anti-diabetic activities of fucosterol from *Pelvetia siliquosa*. *Arch. Pharm. Res.* 27(11) : 1120-2.

**LEPOIVRE, P., 2003.** Phytopathologie. De Boeck, Bruxelles. p161-180.

**LERAY, C., 2014.** Lipids and human nutrition, p53-160. In : CRC Press Lipids (eds.), Lipids : Nutrition and Health. Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York.

**LOFFAGUEN, J. C., HARTMANN, O. E. L., TALAMINI, V., STADNIK, M. J., 2004.** Extratos naturais no controle da antracnose e na produtividade do feijoeiro. *Fitopatol. Bras.* 29(Suppl.) : 106-107.

**LONG, X., ANDREW, J. S., MUNIBA, F., DAOMING, L., XIANLIN, H., HUIYONG, Y., YONGHUA, W., 2017.** Furan fatty acids, beneficial or harmful to health?. Progress in *Lipid Research*. doi:10.1016/j.plipres.10.002.

**LOW, P. S., MERIDA, J. R., 1996.** The oxidative burst in plant defense: function and signal transduction. *Physiol. Plant.* 96 : 533-542.

### -M-

**MACARTAIN, P., GILL, C. I. R., BROOKS, M., CAMPBELL, R., ROWLAND, I. R., 2007.** Nutritional value of edible seaweeds. *Nut. Rev.* 65 : 535-543.

**MACHADO, D.S.F.L., PACIENZA-LIMA, W., ROSSI-BERGMANN, B., DE SOUZA GESTINARI, L.M., FUJII, M.T., DE PAULA, J.C., SOARES, A.R., 2011.** Antileishmanial sesquiterpenes from the Brazilian red alga *Laurencia dendroidea*. *Planta. Medica.* 77(7) : 733-735.

**MACHADO, F.D.S., KAISER, C.R., COSTA, S.S., GESTINARI, L.M., SOARES, A.R., 2010.** Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero *Laurencia*. *Braz. J. Pharmacogn.* 20(3) : 441-452.

**MAGNUSSON, M., MATA, L., DE NYS, R., PAUL, N. A., 2014.** Biomass, lipid and fatty acid production in large-scale cultures of the marine macroalga *Derbesia tenuissima* (Chlorophyta). *Mar. Biotechnol.* 16 : 456-464.

- MAJOURHATA, K., BENDIABA, K. B., MEDRAOUIA, L., BAAZIZ, M., 2002.** Diversity of leaf peroxidases in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) as revealed in an example of marginal (seedling derived) palm groves. *Sci. Hor.* 95 : 31-38.
- MAKAOUI, A., ORBI, A., HILMI, K., ZIZAH, S., LARISSI, J., TALBI, M., 2005.** L'upwelling de la côte atlantique du Maroc entre 1994 et 1998. *C. r. Geoscience.* 337 : 1518-1524.
- MAMDOH, E. E. A., 2001.** Detection and effects of latent contamination of potato tubers by soft rot bacteria, and investigations on the effect of hydrogen peroxide on lipopolysaccharides of *Erwinia carotovora* in relation to acquired resistance against biocides. Thèse de doctorat. Institute of plant pathology and plant protection, Faculty of Agriculture Georg-August-University, Göttingen, Germany.
- MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., REMESY, C., JIMENEZ, L., 2004.** Polyphenols : Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79 : 727-747.
- MARCIEL, J. S., MATEUS B. F., 2014.** Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. *Trop. Plant. Pathol.* 39(2) : 111-118.
- MARFAING, H., 2004.** Les algues dans notre alimentation : Intérêt nutritionnel et utilisations. CEVA, Dietecom Bretagne. *Rev Nut. Prat.* 1-9.
- MASIA, A., VENTURA, M., GEMMA, H., SANSVINI, S., 1998.** Effect of some plant growth regulator treatments on apple fruit ripening. *Plant. Growth. Regul.* 25 : 127-134.
- MAYER, A. M. S., GUSTAFSON, K. R., 2006.** Marine pharmacology in 2003-2004 : Antitumour and cytotoxic compounds. *Eur. J. Cancer.* 42 : 2241-2270.
- MCDERMID, K. J., STUERCKE, B., 2003.** Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *J. Appl. Phycol.* 15 : 513-524.
- MCHUGH, D. J., 2003.** A Guide to the Seaweed Industry. Food and Agriculture Organisation. Fisheries Technical Paper, Rome, Italy. 105pp.
- MELVILLE, F., PULKOWNIK, A., 2007.** Investigation of mangrove macroalgae as biomonitors of estuarine metal contamination. *Sci. Total. Envir.* 287(1-3) : 301-309.
- MENARD, R., ALBAN, S., DE RUFFRAY, P., JAMOIS, F., FRANZ, G., FRITIG, B., YVIN, J. C. KAUFFMANN, S., 2004.** Beta-1,3 glucan sulfate, but not beta-1,3 glucan, induces the salicylic acid signaling pathway in tobacco and Arabidopsis. *Plant. Cell.* 16 : 3020-3032.
- MENDIS, E., KIM, S. K., 2011.** Present and future prospects of seaweeds in developing functional foods. *Adv. Food. Nutr. Res.* 64 : 1-15.
- MERCIER, L., LAFITTE, C., BORDERIES, G., BRIAND, X., ESQUERRE-TUGAYE, M. T., FOURNIER, J., 2001.** The algal polysaccharide carrageenans can act as an elicitor of plant defence. *New. Phytol.* 149 : 43-51.
- MHADHEBI, L., DELLAI, A., CLARY-LAROCHE, A., BEN SAID, R., ROBERT, J., BOURAOUI, A., 2012.** Anti-Inflammatory and Antiproliferative Activities of Organic Fractions from the Mediterranean Brown Seaweed, *Cystoseira compressa*. *Drug. Dev. Res.* 73 : 82-89.
- MISURCOVA, L., KRACMAR, S., KLEJDUS, B., VACEK, J., 2010.** Nitrogen content, dietary fiber, and digestibility in algal food products. *Czech. J. Food. Sci.* 28(1) : 27-35.
- MIZUSAWA, N., WADA, H., 2012.** The role of lipids in photosystem II. *Biochim. et. Biophys. Acta.* 1817 : 194-208.
- MOHAN, R., KOLATTUKUDY, P. E., 1990.** Differential activation of expression of a suberization-associated anionic peroxidase gene in nearisogenic resistant and susceptible tomato lines by elicitors. *Plant. Physiol.* 921 : 276-280.

**MOKRINI, R. M., BEN MESAOU, M., DAOUDI, C., HELLIO, J. P., MARECHAL, M., EL HATTAB, A., ORTALO-MAGNE, L., PIOVETTI, G., CULIOLI, J., 2008.** Meroditerpenoids and derivatives from the brown alga *Cystoseira baccata* and their antifouling properties. *Nat. Prod.* 71(11) : 1806-1811.

**MONTEALEGRE, J. R., LOPEZ, C., STADNIK, M. J., HENRIQUEZ, J. L., HERRERA, R., POLANCO, R., ROBSON, M. D. P., PEREZ, L. M., 2010.** Control of grey rot of apple fruits by biologically active natural products. *Trop. Plant. Pathol.* 35 : 271-276.

**MOONEY, P. A., VAN STADEN, J., 1985.** Effect of seaweed concentrate on the growth of wheat under conditions of water stress. *South. Afric. J. Sci.* 81 : 632-633.

**MOURADI, A., CHIKHAOU, M., FEKHAOU, M., AKALLAL, R., GUESSOUS, A., GIVERNAUD, T., 2006.** Variabilité interspécifique de trois algues rouges : *Hypnea musciformis*, *Gracilaria multipartita* et *Gelidium sesquipedale* (Rhodophycees) de la côte atlantique marocaine. *Afr. Sci.* 02(3) : 365-389.

**MOURADI, A., CHIKHAOU, M., FEKHAOU, M., BENNASSER, L., CHIADMI, N., THIERRY, G., 2008.** Croissance et Capacité Reproductive d'*Hypnea musciformis* (Rhodophyceae, Gigartinales) de la Côte Atlantique Marocaine. *Afric. Sci.* 4(1) : 99-124.

**MOUSSA, H. G., 2006.** Influence of exogenous application of silicon on physiological response of salt stressed Maize (*Zea mays* L.). *Inter. Jr. Agri. Bio.* 8(2) : 293-297.

**MUHAMMAD, G., THOMAS, C., JULIEN, J., MICHEL, P., SAÏD, B., 2009.** Copper modulates the heat-induced sulfhydryl/disulfide interchange reactions of b-Lactoglobulin. *Food. Chem.* 116 : 884-891.

**MUKHERJEE, A., CUI, Y., LIU, Y., DUMENYO, K.C., CHATTERJEE, A. K., 1996.** Global regulation in *Erwinia* species by *Erwinia carotovora rsmA*, a homologue of *Escherichia coli csrA* : repression of secondary metabolites, pathogenicity and hypersensitive reaction. *Microbiol.* 142 : 427-434.

### -N-

**NAWAR, D. A. S., IBRAHEIM, S. K. A., 2014.** Effect of algae extract and nitrogen fertilizer rates on growth and productivity of peas. *Middle. East. J. Agric. Res.* 3(4) : 1232-1241.

**NETSCHER, T., 2007.** Synthesis of Vitamin E. *Vitamins and Hormones.* 76 : 155-202.

**NEWMAN, M. A., VON ROEPENACK-LAHAYE, E., PARR, A., DANIELS, M. J., DOW, J. M., 2002.** Prior exposure to lipopolysaccharide potentiates expression of plant defenses in response to bacteria. *Plant. J.* 29 : 487-495.

**NEWTON, I.S., 1996.** Long chain fatty acids in health and nutrition. *J. Food Lipids.* 3 : 233-249.

**NOMURA, M., KAMOGAWA, H., SUSANTO, E., KAWAGOE, C., YASUI, H., SAGA, N., HOSOKAWA, M., MIYASHITA, K., 2013.** Seasonal variations of total lipids, fatty acid composition, and fucoxanthin contents of *Sargassum horneri* (Turner) and *Cystoseira hakodatensis* (Yendo) from the northern seashore of Japan. *J. Appl. Phycol.* 25 : 1159-1169.

**NORRIE, J., KEATHLEY, J. P., 2006.** Benefits of *Ascophyllum nodosum* marine-plant extract applications to « *Thompson seedless* » grape production. *Acta. Hort.* 727 : 243-247.

### -O-

**O'SULLIVAN, L., MURPHY, B., MCLOUGHLIN, P., DUGGAN, P., LAWLOR, P. G., HUGHES, H., GILLIAN, E. G., 2010.** Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Mar. Drugs.* 8(7) : 2038-2064.

**ORTIZ, J., ROMERO, N., ROBERT, P., ARAYA, J., LOPEZ-HERNANDEZ, J., BOZZO, C., NAVARRETE, E., OSORIO, A., RIOS, A., 2006.** Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food. Chem.* 99 : 98-104.

**OUMASKOUR, K., BOUJABER, N., ETAHIRI, S., ASSOBEI, O., 2012.** Screening of antibacterial and antifungal activities in green and brown algae from the coast of Sidi Bouzid (El Jadida, Morocco). *Afr. J. Biotechnol.* 11(104) : 16831-16837.

### -P-

**PANGESTUTI, R., KIM, S.K., 2011.** Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. *J. Funct. Foods.* 3 : 255-266.

**PATIER, P., POTIN, P., ROCHAS, C., KLOAREG, B., YVIN, J. C., LIENART, Y., 1995.** Free or silica-bound oligokappa-carrageenans elicit laminarase activity in *Rubus* cells and protoplasts. *Plant. Sci.* 110 : 27-35.

**PAUL, N. A., DE NYS, R., STEINBERG, P. D., 2006.** Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata* : linking structure with function. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 306 : 87-101.

**PAULERT, R., TALAMINI, V., CASSOLATO, J., DUARTE, M., NOSEDA, M., SMANIA JR., A., STADNIK, M., 2009.** Effects of sulfated polysaccharide and alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata* on anthracnose severity and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Plant. Dis. Prot.* 116 : 263-270.

**PEC, M. K., AGUIRRE, A., MOSER-THEIR, K., FERNANDEZ, J. J., SOUTO, M. L., DORTA, J., DIAZ-GONZALEZ, F., VILLAR, J., 2003.** Induction of apoptosis in estrogen dependent and independent breast cancer cells by the marine terpenoid dehydrothyriferol. *Biochem. Pharmacol.* 65 : 1451-1461.

**PEREZ, N.A., REBOLLOSO-FUENTES, M.M., RAMOS-MIRAS, J.J., GUIL-GUERRERO, J.L., 2001.** Biomass nutrient profiles of the microalga *Phaeodactylum tricorutum*. *J. Food. Biochem.* 25 : 57-76.

**PEREZ, R., 1997.** Ces algues qui nous entourent. Ifremer. 272pp.

**PEROMBELON, M. C. M., 1973.** Sites of contamination and numbers of *Erwinia carotovora* present in stored seed potato stocks in Scotland. *Ann. Appl. Biol.* 74 : 59-65.

**PEROMBELON, M. C. M., 1992a.** Diversity in erwinias as plant pathogens, p113-28. In : INRA (ed.), Plant Pathogenic Bacteria. Versailles, France.

**PEROMBELON, M. C. M., 1992b.** Potato blackleg : epidemiology, host-pathogen interaction and control. *Neth. J. Plant. Pathol.* 98 : 135-46.

**PEROMBELON, M. C. M., 2000.** Blackleg risk potential of seed potatoes determined by quantification of tuber contamination by the causal agent and *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*: a critical review. *Bull. OEPP.* 30(3-4) : 413-420.

**PEROMBELON, M. C. M., 2002.** Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant. Pathol.* 51 : 1-12.

**PEROMBELON, M. C. M., HYMAN, L. J., 1986.** A rapid method for identifying and quantifying soft rot erwinias directly from plant material based on their temperature tolerances and sensitivity to erythromycin. *J. Appl. Bacteriol.* 60 : 61-66.

**PEROMBELON, M. C. M., HYMAN, L. J., 1989.** Survival of soft rot coliforms, *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* and *E. carotovora* subsp. *atroseptica* in soil in Scotland. *J. Appl. Bacteriol.* 66 : 95-106.

**PEROMBELON, M. C. M., KELMAN, A., 1980.** Ecology of the soft rot erwinias. *Ann. Rev. Phytopathol.* 18 : 361-387.

**PEROMBELON, M. C. M., KELMAN, A., 1987.** Blackleg and other potato diseases caused by soft rot erwinias, proposal for revision of terminology. *Plant. Dis.* 71 : 283-5.

**PEROMBELON, M. C. M., SALMOND, G., 1995.** Pathogenesis and host specificity in plant diseases. Histopathological, biochemical, genetic and molecular basis, p1-20. *In* : U.S. Singh, R. P. Singh and K. Kohmoto (eds.), Bacterial soft rot. Pergamon, United Kingdom.

**PERON, J. Y., 2006.** Productions légumières. Collection Références, 2<sup>ème</sup> Edition. Synthèse Agricole/Lavoisier, Paris, France. p538-547.

**PERSON, J., 2010.** Algues, filières du futur, colloque algues : filières du futur, livre turquoise, Adebitech, Romainville. 200pp.

**PESANDO, D., CARAM, B., 1984.** Screening of marine algae from the French Mediterranean Coast for antibacterial and antifungal activity. *Bot. Mar.* 27 : 381-386.

**PIETERSE, C. M. J., VAN PELT, J. A., VERHAGEN, B. W. M., TON, J., VAN WEES, S. C. M., LEON- KLOOSTERZIEL, K. M., VAN LOON, L. C., 2003.** Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Symbiosis.* 35 : 39-54.

**PIETERSE, C. M. J., VANWEES, S. C. M., HOFFLAND, E., VANPELT, J. A., VANLOON, L. C., 1996.** Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *Plant. Cell.* 8 : 1225-1237.

**PLAZA, M., SANTOYO, S., JAIME, L., GARCIA-BLAIRSY, R. G., HERRERO, M., SENORANS, F.J., IBANEZ, E., 2009.** Screening for bioactive compounds from algae. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 51 : 450-455.

**POHNERT, G., 2004.** Chemical defense strategies of marine organisms. *Top. Curr. Chem.* 239 : 179-219.

**POLLE, A., OTTER, T., SEIFERT, F., 1994.** Apoplastic peroxidases and lignification in needles of norway spruce (*Picea abies* L.). *Plant. Physiol.* 106 : 53-60.

**POVOLNY, M., 1976.** The effect of an extract from sea algae on the yield, ripening, and storage of tomatoes. *Sbornik UVTIZ Zahradnictvi (Praha).* 3 : 133-144.

## -R-

**RADMER, R. J., PARKER, B.C., 1994.** Commercial application of algae : opportunities and constraints. *J. Phycol.* 6 : 93-98.

**RAJAPAKSE, N., KIM, S. K., 2011.** Nutritional and digestive health benefits of seaweed. *Adv. Food. Nutr. Res.* 64 : 17-28.

**RAKOTONINDRAINA, T. F., 2012.** Analyse et modélisation des effets des pratiques culturales sur les épidémies de mildiou de la pomme de terre. Adaptation du modèle SIPPOM (Simulator for Integrated Pathogen Population Management) au pathosystème. Thèse en Science. Institut Nat. Polytech. Toulouse. France. 160pp.

**RAMADAN, F. M., ASKER, S. M., ZEINAB, I. K., 2008.** Functional bioactive compounds and biological activities of *Spirulina platensis* lipids. *Czech. J. Food. Sci.* 26(3) : 211-222.

**RAMADE, A., 2009.** Eléments d'écologie appliquée. Dunod, 4<sup>ème</sup> Edition Paris, France. 689pp.

**RAMAMOORTHY, V., VISWANATHAN, R., RAGUCHANDER, T., PRAKASAM, V., SAMIYAPPAN, R., 2001.** Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop. Prot.* 20 : 1-11.

- 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. *J. Life. Sci.* 3 : 17-21.
- RANDHIR, R., LIN, Y. T., SHETTY, K., 2004.** Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. *J. Clin. Nutr.* 13 : 295-307.
- RAPPORT NATIONAL, 2007.** La protection des plantes des stratégies de lutte intégrées. Les maladies bactériennes de la pomme de terre : rapport d'activité. INRA. p27-46, 47pp.
- RAPPORT NATIONAL., 2012.** Etude nationale sur la biodiversité : rapport de synthèse. Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. p37-40, 124pp.
- RAPPORT NATIONAL, 2013.** La mer en chiffre : rapport de synthèse. Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. p4-5, 52pp.
- RAPPORT NATIONAL, 2015.** La mer en chiffre : rapport de synthèse. Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. p4-5, 52pp.
- REES, S. B., HARBORN, J. B., 1985.** The role of sesquiterpene lactones and phenolics in the chemical defence of the chicory plant. *Phytochem.* 24(10) : 2225-2231.
- RENAUD, S. M., LUONG-VAN, J.T., 2006.** Seasonal variation in the chemical composition of tropical Australian marine macroalgae. *J. Appl. Phycol.* 18 : 381-387.
- RENSINK, W., HART, A., LIU, J., OUYANG, S., ZISMANN, V., BUELL, C.R. 2005.** Analyzing the potato abiotic stress transcriptome using expressed sequence tags. *Genome.* 48 : 598- 605.
- REUVENI, R., FERREIRA, J. F., 1985.** The relationship between peroxydase activity and the resistance of tomatoes (*Lycopersicum esculentum*) to *Verticillium dahliae*. *J. Phytopathol.* 112(3) : 193-197.
- RIADI, H., 1998.** Biodiversité des algues marines, rapport étude nationale de biodiversité, faculté des sciences Tetouan Maroc, projet gef/6105. p92-96.
- RIDE, J. P., 1983.** Cell walls and other structural barriers in defence, p215-236. In : J. A. Callow (ed.), Biochemical plant pathology. John Wiley and Sons, NewYork.
- RODIER, J., LEGUBE, B., MERLET, N., 1998.** L'analyse de l'eau. Dosage des nitrates Partie 3 méthode spectrométrique avec l'acide sulfosalicylique. Dunod, 9<sup>ème</sup> Edition.
- RODRIGUES, D., FREITAS, A. C., PEREIRA, L., ROCHA-SANTOS, T., VASCONCELOS, M. W., RORIZ, M., RODRIGUEZ-ALCALA, L. M., GOMES, A. M. P., DUARTE, A.C., 2015.** Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal. *Food. Chem.* 183 : 197-207.
- ROUSSELLE, P., ROBERT, Y., CROSNIER, J. C., 1996.** La pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. INRA Editions. Paris, France. 278pp.

-S-

- SAHARA, H., HANASHIMA, S., YAMAZAKI, T., TAKAHASHI, S., SUGAWARA, F., OHTANI, S., ISHIKAWA, M., MIZUSHINA, Y., OHTA, K., SHIMOZAWA, K., GASA, S., JIMBOW, K., SAKAGUCHI, K., SATO, N., TAKAHASHI, N., 2002.** Anti-tumor effect of chemically synthesized sulfolipids based on sea urchin's natural sulfonoquinovosylmonoacylglycerols. *Jpn. J. Cancer. Res.* 93 : 85-92.
- SAMSON, R., LEGENDRE, J. B., CHRISTEN, R., SAUX, M. F.L., ACHOUAK, W., GARDAN, L., 2005.** Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al., 1953) Brenner et al., 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

*paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov. *Dickeya dianthicola* sp. nov. *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zea* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55 : 1415-1427.

**SAMSON, R., POUTIER, F., SAILLY, M., JOUAN, B., 1987.** Caractérisation des *Erwinia chrysanthemi* isolées de *Solanum tuberosum* et d'autres plantes hôtes selon les biovars et sérogroupes. *Bull. OEPP.* 17 : 11-6.

**SANGHA, J. S., RAVICHANDRAN, S., PRITHIVIRAJ, K., CRITCHLEY, A. T., PRITHIVIRAJ, B., 2010.** Sulfated macroalgal polysaccharides  $\lambda$ -carrageenan and  $\iota$ -carrageenan differentially alter *Arabidopsis thaliana* resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 75 : 38-45.

**SANTOS, S. A. O., STEPHANIE, S. T., CATIA, S. D. O., PAULA, P., DANIELA, R., MARIA, F. D., ISABEL, F., MARIA, T. C., ANDREIA, M. R., MARIA, H. A., SILVIA, M. R., ARMANDO, J. D. S., 2017.** Lipophilic Fraction of Cultivated *Bifurcaria bifurcata* R. Ross : Detailed Composition and *in vitro* Prospection of Current Challenging Bioactive Properties. *Mar. Drugs.* 15 : 340.

**SARHAN, T. Z., ALI, T. S., RASHEED, S. M. S., 2011.** Effect of bread yeast application and seaweed extract on cucumber (*Cucumis sativus* L.) plant growth, yield and fruit quality. *Mesopotamia. J. Agric.* 39(2) : 26-34.

**SCHAAD, N. W., JONES, J. B., CHUN, W., 2001.** Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third edition, APS Press. St Paul, Minnesota (US). 373p.

**SCHMID, M., GUIHENEUF, F., STENGEL, D. B., 2014.** Fatty acid contents and profiles of 16 macroalgae collected from the Irish Coast at two seasons. *J. Appl. Phycol.* 26 : 451-463.

**SCHMID, P., 1973.** Extraction and purification of lipids. II. Why is chloroform-methanol such a good lipid solvent. *Physiol. Chem. Physics.* 5 : 141-150.

**SCHMID, P., CALVERT, J., STEINER, R., 1973a.** Extraction and purification of lipids. IV. Alternative binary solvent systems to replace chloroform-methanol in studies on biological membranes. *Physiol. Chem. Physics.* 5 : 157-166.

**SCHMID, P., HUNTER, E., CALVERT, J., 1973b.** Extraction and purification of lipids. III. Serious limitations of chloroform and chloroform-methanol in lipid investigations. *Physiol. Chem. Physics.* 5 : 151-155.

**SERGIEV, L., ALEXIEVA, E., KARANOV, E., 1997.** Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and markers in plants. *Compt. Rend. Acad. Bulg. Sci.* 51 : 121-124.

**SHARMA, H.S., FLEMING, C., SELBY, C., RAO, J., MARTIN, T., 2013.** Plant biostimulants: areview on the processing of macroalgae and use of extracts for crop managementto reduce abiotic and biotic stresses. *J. Appl. Phycol.* 26(1) : 465-490.

**SHIBATA, T., FUJIMOTO, K., NAGAYAMA, K., YAMAGUCHI, K., NAKAMURA, T., 2002.** Inhibitory activity of brown algal phlorotannins against hyaluronidase. *Int. J. Food. Sci. Technol.* 37(6) : 703-709.

**SILVA, G. C., COSTA, A. R., OLIVEIRA-PEIXOTO, J. R., PESSOA-NASCIMENTO, E. F. R., DE MACEDO-CARNEIRO, P. B., FERNANDES-VIEIRA, R. H., 2013.** Tropical Atlantic marine macroalgae with bioactivity against virulent and antibiotic resistant *Vibrio*. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 41(1) : 183-188.

**SINGH, B., CHAUDHARY, L. C., AGARWAL., KAMRA, D. N., 2011.** Effect of feeding ficus infectoria leaves on rumen microbial profile and nutrient utilization in goats. *Asian. Aust. J. Anim. Sci.* 24(6) : 810-817.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- SIVASANKARI, S., VENKATESALU, V., ANANTHARAJ, M., CHANDRASEKARAN, M., 2006.** Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of *Vigna sinensis*. *Bioresour. Technol.* 97(14) : 1745-1751.
- SKERMAN, V. B. D., MCGOWAN, V., SNEATH, P. H. A., 1980.** Approved lists of bacterial names. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30 : 225-420.
- SMIT, A. J., 2004.** Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products : A review. *J. Appl. Phycol.* 16 : 245-262.
- SMITH, C., BARTZ, J. A., 1990.** Variation in the pathogenicity and aggressiveness of strains of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* isolated from different hosts. *Plant. Dis.* 74 : 505-9.
- SNAIKI, J., NADIF, A., OUHSSINE, M., 2005.** Détection de deux pathotypes d'*Erwinia* causant la maladie de la pourriture molle sur la betterave à sucre dans la plaine du Gharb au Maroc. *Bull. EPPO.* 35 : 537-540.
- SOLTNER, D., 1990.** Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. 17<sup>ème</sup> Edition Sainte Gemmes sur Loire, Sciences et techniques agricoles. France. 464pp.
- STADNIK, M. J., PAULERT, R., 2008.** Uso de macroalgas marinhas na agricultura. *Série Livros do Museu Nacional do Rio de Janeiro.* 30 : 267-279.
- STÄUBLI, B., WENGE, R., VON DACH, S. W., 2008.** Pommes de terre et changement climatique, *Info resources. Focus.* 1(8) : 3-12.
- STICHER, L., MAUCHMANI, B., METRAUX, J. P., 1997.** Systemic acquired resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 35 : 235-270.
- STIRK, W. A., TARKOWSKA, D., TUREC'OVA, V., STRNAD, M., VAN STADEN, J., 2014.** Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*. *J. Appl. Phycol.* 26 : 561-567.
- SUBROTO, T., VAN-KONINGSVELD, G. A., SCHREUDER, H. A., SOEDJANAATMADJA, U. M. S., BEINTEMA, J. J., 1996.** Chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in the luteoid-body fraction of Hevea latex. *Phytochem.* 43 : 29-37.
- SUN, T. J., LU, Y., NARUSAKA, M., SHI, C., YANG, Y. B., WU, J. X., ZENG, H. Y., NARUSAKA, Y., YAO, N., 2015.** A novel pyrimidin-like plant activator stimulates plant disease resistance and promotes growth. *PLoS. One.* 10(4):e0123227.doi:10.1371/jpone.0123227.
- SUSLOW, T.V., SCHROTH, M. N., ISAKA, M., 1982.** Application of a rapid method for Gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. *Phytopathol.* 72 : 917-918.

## -T-

- TAKAICHI, S., 2011.** Carotenoids in Algae : Distributions, Biosyntheses and Functions. *Mar. Drugs.* 9 : 1101-1118.
- TAN, K. S., TOSONT, T., MASUDA, Y., KAMISACA, S., 1992.** Involvement of cell Wall-bound diferulic acid in light-induced decrease in growth rate and cell wall extensibility of *Oryza* coleoptiles. *Plant. Cell. Physiol.* 30 : 103-108.
- TASENDE, M. G., 2000.** Fatty acid and sterol composition of gametophytes and sporophytes of *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Sci. Mar.* 64 : 421-426.
- THALER, A., HOTTKOWITZ, T., EIBL, H., 2000.** Separation and quantification of alkylphosphocholines by reversed phase high performance liquid chromatography. *Chem. Phys. Lipids.* 107 : 131-139.

- THOMAS, N. V., KIM, S. K., 2013.** Beneficial effects of marine algal compounds in cosmeceuticals. *Mar. Drugs*. 11 : 146-164.
- TOTH, I. K., BELL, K. S., HOLEVA, M. C., BIRCH, P. R. J., 2003a.** Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Mol. Plant. Pathol.* 4 : 17-30.
- TOTH, I. K., BIRCH, P. R. J., 2005.** Rotting softly and stealthily. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 8 : 424-429.
- TOTH, I. K., SULLIVAN, L., BRIERLEY, J. L., AVROVA, A. O., HYMAN, L. J., HOLEVA, M., BROADFOOT, L., PEROMBELON, M. C. M., MCNICOL, J. 2003b.** Relationship between potato seed tuber contamination by *Erwinia carotovora* ssp *atroseptica*, blackleg disease development and progeny tuber contamination. *Plant. Pathol.* 52 : 119-126.
- TOTH, I. K., VAN DER WOLF, J. M., SADDLER, G., LOJKOWSKA, E., HELIAS, V., PIRHONEN, M., TSROR, L. L., ELPHINSTONE, J. G., 2011.** *Dickeya* species : an emerging problem for potato production in Europe. *Plant. Pathol.* 60 : 385-9.
- TREMOLIERES, A., SIEGENTHALER, P. A., 1998.** Role of acyl lipids in the function of photosynthetic membranes in higher plants, p145-173. In : P. A. Siegenthaler and N. Murata (eds.), *Lipids in Photosynthesis : Structure, Function and Genetics*. Kluwer, Dordrecht.
- TSROR, L. L., ERLICH, O., LEBIUSH, S., HAZANOVSKY, M., ZIG, U., SLAWIAK, M., GRABE, G., VAN DER WOLF, J. M., VAN DE HAAR, J. J., 2009.** Assessment of recent outbreaks of *Dickeya* sp. (syn. *Erwinia chrysanthemi*) slow wilt in potato crops in Israel. *Eur. J. Plant. Pathol.* 123 : 311-320.
- TSUDA, K., KATAGIRI, F., 2010.** Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 13 : 459- 465.
- V-**
- VALLAD, G. E., GOODMAN, R. M., 2004.** Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *J. Crop. Sci. Soc. Am.* 44 : 1920-1934.
- VAN DER ENT, S., VAN WEES, S. C. M., PIETERSE, C. M. J., 2009.** Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. *Phytochem.* 70 : 1581-1588.
- VAN DER WOLF, J., SPEKSNIJDER, A., VELVIS, H., VAN DE HAAR, J., VAN DOORN, J., 2007.** Why is *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya* sp.) taking over? - The ecology of a blackleg pathogen, p32. In : A. Hannukkala and M. Segerstedt (eds.), *New and old pathogens of potato in changing climate*. Proceedings of the EAPR Pathology Section seminar. Hattula : MTT, Agrifood Research.
- VERA, J., CASTRO, J., CONTRERAS, R. A., GONZALEZ, A., MOENNE, A., 2012.** Oligo-carrageenans induce a long-term and broad-range protection against pathogens in tobacco plants (var. Xanthi). *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 79 : 31-39.
- VERA, J., CASTRO, J., GONZALEZ, A., MOENNE, A., 2011.** Seaweed polysaccharides and derived oligosaccharides stimulate defense responses and protection against pathogens in plants. *Mar. Drugs*. 12 : 2514-2525.
- VERKLEIJ, F. N., 1992.** Seaweed extracts in agriculture and horticulture : a review. *Biol. Agric. Hort.* 8 : 309-324.
- VERON, B., 1999.** Phytosterol conjugates in marine plants. *Recent Res. Develop. Lipid Res.* 3 : 191-204.

**-W-**

- WALDEE, E. L., 1945.** Comparative studies of some peritrichous phytopathogenic bacteria. *Iowa State.J. Sci.* 19 : 435-484.
- WALTERS, D. R., FOUNTAINE, J. M., 2009.** Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. *J. Agr. Sc.* 147(5) : 523-535.
- WALTERS, D. R., RATSEP, J., HAVIS, N. D., 2013.** Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *J. Exp. Bot.* 64(5) : 1263-1280.
- WATKINS, B. A., LIPPMAN, H. E., LE BOUTELLER, L., LI, Y., SEIFERT, M. F., 2001.** Bioactive fatty acids : role in bone biology and bone cell function. *Prog. Lipid. Res.* 10 : 125-148.
- WHITEHEAD, N. A., BARNARD, A. M. L., SLATER, H., SIMPSON, N. J. L., SALMOND, G. P. C., 2001.** Quorum-sensing in Gram-negative bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 25 : 365-404.
- WIELGOSZ-COLLIN, G., KENDEL, M., COUZINET-MOSSION, A., 2016.** Seaweed in Health and Disease Prevention, p185-221. *In* : J. Fleurence and I. Levine (eds.), *Lipids, Fatty Acids, Glycolipids, and Phospholipids*. Academic Press, Elsevier, USA.
- WINSLOW, C. E. A., BROADHURST, J., BUCHANAN, R. E., KRUMWIEDE, C., ROGERS, L. A., SMITH, G. H., 1920.** The families and genera of bacteria. Final report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. *J. Bacteriol.* 191-229.
- WITITSUWANNAKUL, D., CHAREONTHIPHAKORN, N., PACE, M., WITITSUWANNAKUL, R., 2002.** Polyphenol oxidases from latex of *Hevea brasiliensis* : purification and characterization. *Phytochem.* 61(2) : 115-121.
- WU, J., BALDWIN, I. T., 2010.** New Insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annu. Rev. Genet.* 44 : 1-24.
- WU, Y., JENKINS, T., BLUNDEN, G., WHAPMAN, C., HANKINS, S. D., 1997.** The role of betaines in alkaline extracts of *Ascophyllum nodosum* in the reduction of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* infestations of tomato plants. *Fundam. Appl. Nematol.* 20 : 99-102.

**-X-**

- XING, W., RAJASHEKAR, C., 2001.** Glycine betaine involvement in freezing tolerance and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Environ. Exp. Bot.* 46 : 21-28.
- XU, X. Q., TRAN, V. H., KRAFT, G., BEARDALL, J., 1998.** Fatty acids of six *Codium* species from southeast Australia. *Phytochem.* 48 : 1335-1339.

**-Y-**

- YAGANZA, E. S., 2005.** Utilisation post-récolte de sels organiques et inorganiques pour lutter contre la pourriture molle de la pomme de terre : base physico-chimique. Thèse de doctorat en Sciences et Technologie des Aliments. Fac. Sci. Agri. Alim. Laval, Canada. 3 : 56-63.
- YAN, X., CHEN, D., XU, J., ZHOU, C., 2011.** Profiles of photosynthetic glycerolipids in three strains of *Skeletonema* determined by UPLC-Q-TOF-MS. *J. Appl. Phycol.* 23 : 271-282.
- YOUNG, S. A., GUO, A., GUIKEMA, J. A., WHITE, F. F., LEACH, J. E., 1995.** Rice cationic peroxidase accumulates in xylem vessels during incompatible interaction with *Xanthomonas oryzae pv oryzae*. *Plant. Physiol.* 107 : 1333-1341.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**YUAN, Y.V., WALSH, N. A., 2006.** Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food. Chem. Toxicol.* 44 : 1144-1150.

**YVIN, J. C., CHABOT, R., SAVARY, P., 1989.** Les algues en agriculture. Influence sur les plantes cultivées et approche moléculaire des mécanismes d'action. *Perspect. Agric.* 134 : 74-80.

### **-Z-**

**ZAMIOUDIS, C., PIETERSE, C. M. J., 2012.** Modulation of host immunity by beneficial microbes. *Mol. Plant. Microbe. Interact.* 25 : 139-150.

**ZERN, T. L., FERNANDEZ, M. L., 2005.** Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J. Nutr.* 135 : 2291-2294.

**ZHANG, J., ZHOU, J. M., 2010.** Plant immunity triggered by microbial molecular signatures. *Mol. Plant.* 3 : 783-793.

**ZIOUTI, A., EL MADAFAR, C., BOUSTANI, E., 1998.** Rôle des composés phénoliques du palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*) dans sa défense contre le bayoud (*Fusarium oxysporum F.sp. albedinis*). *Polyphenols. Comms.* 98 : 457-458.

**ZITOUNI, H., 2015.** Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires. Thèse de doctorat. Fac. Sci. Constantine, Alger. p196.

# **Annexes**

**Annexe 1** : Composition des milieux de culture utilisés en g/L

- **Muller Hinton Agar (MH)**

Extrait de viande	3,0
Hydrolysate de Caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	17,0
pH	7,4 ± 0,2

- **King B (KB)**

Protéose peptone	20
Phosphate de potassium dibasique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	1,145
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	1,5
Agar	15
Glycérol	15 mL

- **Levane**

Agar Nutritif (AN)	23
D-glucose	2,5
Sucre de table	50

- **CCT**

Sucre de table	100
Sorbitol	10
Tergitol anionic 7 (solution de 1%)	30 mL
Crystal violet (solution de 0,1% dans éthanol)	2,0 mL
Agar Nutritif (AN)	23
Cycloheximide	0,050

- **Urée-indole**

L-tryptophane	0,3
Dihydrogénophosphate de potassium (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,1
Hydrogénophosphate de dipotassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0,1
Chlorure de sodium (NaCl)	0,5
Urée	2
Rouge de phénol	0,25

- **Citrate de Simmons**

Dihydrogénophosphate d'ammonium ((NH <sub>4</sub> ) H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1
Phosphate de potassium dibasique (HK <sub>2</sub> O <sub>4</sub> P)	1
Chlorure de sodium (NaCl)	5
Bleu de bromothymol	0,08
Citrate de sodium (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>7</sub> )	2
Sulfate de magnésium (MgSO <sub>4</sub> )	0,2
Agar bactériologique type A	20

- **Milieu de culture liquide RS**

Sucrose	40
Peptone (Bacto)	10
Extrait de bœuf	5

- **Oxydation/Fermentation**

Peptone	2,0
Chlorure de sodium (NaCl)	5,0
Hydrogénophosphate de dipotassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0,3
Blue de bromothymol	0,03
Agar	8,0

**Annexe 2 : Composition des révélateurs chimiques**

- **Vanilline sulfurique**

1 g de vanilline dans 100 mL d'acide sulfurique concentré.

- **Orcinol**

1,67 g Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) dans 100 mL Acide sulfurique ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 10 %

0,6 g Orcinol dans 10 mL Ethanol 95 %

**Annexe 3 : Dosage des protéines par la méthode de Bradford**

- **Réactif de BRADFORD**

0,1 g de Bleu de Coomassie brillant G250

50 mL d'éthanol

100 mL d'acide phosphorique 85 %

1000 mL Eau distillée

- **Solution de Sérum Albumine Bovine (BSA)** à 0,1 g/1000 mL de l'Eau distillée.

## Annexe 4 : Isolement, culture et identification de l'agent pathogène

### 1. Isolement et culture

**1.1. Origine :** L'isolat provient des fragments des plantes de pomme de terre présentant des symptômes de pourriture causée par *E. sp.* (*Erwinia sp.*) Les fragments récoltés ont été placés dans des sacs en plastique stérile et humide pour favoriser leur développement.

**1.2. Isolement :** Le prélèvement des fragments infectés à partir des tubercules récoltés est réalisé dans une zone stérile en présence du bec benzène. Une partie de tissu infecté est prélevé, rincé avec de l'eau de robinet ou désinfecté superficiellement à l'aide du coton imbibé d'éthanol à 70 %. Ensuite, les tissus sont placés dans de l'eau physiologique stérile (solution saline de NaCl 0,85 %) et laissé tremper de 20 min à 2 heures. Après on prépare des dilutions de 1/10 et 1/100.

**1.3. Mise en culture :** L'isolement et le développement de la bactérie sont réalisés sur le milieu de culture CCTensemencé par épuisement, ensuite le milieu inoculé est incubé à 26 °C de 24 à 72 heures. Après incubation les milieux sont conservés à une température de 4 °C.

**1.4. Lecture :** Après incubation on vérifie la croissance bactérienne et on fait la lecture du diamètre des colonies qui devrait se situer entre 4,0 et 7,0 mm. Les colonies typiques ont les caractères décrits ci-après :

- **Sur milieu KB :** les colonies apparaissent à 48 heures de couleur blanche, circulaire tendant à s'étaler et non fluorescentes sous UV à 356 nm.
- **Sur milieu Levane :** les colonies apparaissent à 48 heures blanchâtres, circulaire bombées, lisses et muqueuses.
- **Sur milieu CCT :** les colonies apparaissent à 72 heures pâle-violet, circulaire, fortement convexes, voire bombées puis deviennent lisses et muqueuses. Leurs croissances est plus lente que sur les milieux KB et Levane. Le milieu CCT inhibe les *Pseudomonas spp.* mais pas *Pantoea agglomerans*.

**1.5. Purification :** La purification est réalisée par passage successif sur milieu frais à l'aide d'une anse stérile. Des colonies sont prélevées et repiquées sur des boîtes de pétri contenant le milieu CCT, Levane ou KB (Annexe 1). La purification est répétée plusieurs fois afin de s'assurer de la pureté de la bactérie.

## 2. Identification

L'identification de l'agent pathogène consiste à la réalisation d'une série des tests pour confirmer les caractéristiques décrites plus haut. Les colonies suspectes sont identifiées au moyen de différents tests, cette identification est confirmée par le test du pouvoir pathogène sur jeune feuille de tabac et sur des tranches de tubercule de pomme de terre.

Seuls quelques tests sont nécessaires pour confirmer leur identité en tant que *Erwinia*. Ils sont énumérés ci-dessous :

**2.1. La pourriture de pomme de terre :** La pomme de terre doit présenter une pourriture visible.

**2.2. Test à la potasse indicateur du GRAM (Suslowetal., 1982) :** Sur une lame de microscope déposer une goutte d'une solution aqueuse à 3 % de KOH. Faire une émulsion d'une anse de culture bactérienne âgée de 24 à 48 heures avec la solution. Le gram est considéré négatif s'il y a formation de filament en soulevant l'anse. Le gram est considéré positif en l'absence de filament.

**2.3. Test de catalase (Hyman et al., 2002) :** le test catalase sert à démontrer si la bactérie possède l'enzyme catalase servant à décomposer le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Sur une lame déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène à 3 %, à l'aide d'un cure-dent prendre la bactérie à identifier et la déposer dans la solution de peroxyde d'hydrogène. Attendre 2 min et lire la réaction obtenue. La réaction est positive s'il y a présence de bulles révélant le dégagement d'oxygène, par contre la réaction est négative en absence de bulles.

**2.4. Test d'oxydase (Hyman et al., 2002) :** Le test d'oxydase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme cytochrome C oxydase. Sur un papier filtre déposer un disque d'oxydase humidifié par quelques gouttes d'eau distillée stérile. A l'aide d'un cure-dent prendre la bactérie à identifier et la déposer sur le disque, lire la réaction dans les 30 secondes. La réaction est négative en absence de coloration, par contre la réaction est positive s'il y a présence d'une coloration rose pâle à violet.

**2.5. Test d'oxydation/fermentation (Hyman et al., 2002) :** Ce test différencie la fermentation du métabolisme oxydatif des glucides. Ensemencer deux tubes de milieu d'oxydation/fermentation moyenne (Annexe 1) avec la bactérie à identifier par ligne droite, verser dans l'un des tubes 1 cm d'huile de paraffine pour induire des conditions d'anaérobioses et porter à incubation à 27 °C pendant 24 à 48 heures. La formation de couleur résultant de la

production d'acide dans les deux tubes indique que la bactérie est fermentaire (+/+), la formation de couleur que dans le tube sans la capo d'huile indique que la bactérie est oxydante (+/-).

**2.6. Biotest sur des tranches de tubercules de pomme de terre (Mamdoh, 2001) :** Les isolats bactériens ont été cultivés sur le milieu King B (Annexe 1) pour 24 heures. Les tubercules de pommes de terre, ont été lavées et stérilisées avec de l'éthanol à 96 %, coupées avec un couteau stérile en tranches de 8-10 mm et placées dans des boîtes de pétri. 10 mL de sulfate de magnésium (0,01 M) ont été ajoutés à chaque boîte de pétri et chaque tranche a été inoculée avec une suspension de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> de bactéries à tester et incubée à 27 °C pendant 24 heures. La souche bactérienne a été testée trois fois. Une réaction positive a été constatée lorsque les tranches de pomme de terre ont montré un développement de pourriture molle.

L'identification des espèces et sous-espèces est basée sur le modèle de réaction bactérienne à un nombre relativement petit de test d'identification, l'identification peut être encore simplifiée par l'application d'un nombre choisi de tests. Il est essentiel d'utiliser des cultures pures et fraîches de bactéries lors de l'exécution des tests (Bauer et al., 1966 ; Hyman et al., 2002).

**2.7. Test de la croissance en AN (Agar Nutritif) à 37 °C (Hyman et al., 2002) :** Sélectionner une ou deux colonies et repiquer les sur le milieu d'agar nutritif, incubé le milieu à 27 °C pendant environ 2 semaines pour s'assurer que seuls les colonies d'*Erwinia* soient présentes, (*Erwinia* forme ronde convexe, colonie crème translucide).

**2.8. Différenciation des *Erwinia* spp. par croissance à des différentes températures (Perombelon et Hyman, 1986; Janse et Spit, 1989) :** Les isolats bactériens ont été étalés sur le milieu King B et incubés à trois différentes températures (27 °C ; 35,5 °C et 37 °C) pendant 24 heures. Les boîtes de pétri ont été évaluées à chaque température. *Erwinia chrysanthemi* est capable de croître et de former des cavités caractéristiques à trois différentes températures (27 °C, 35,5 °C et 37 °C), pour *Ecc* à 27 °C et 35,5 °C et *Eca* seulement à 27 °C.

**2.9. Test de la croissance à 35 °C (Hyman et al., 2002) :** Inoculer le milieu Trypcase soja par la bactérie à identifier, porter à incubation à 35 °C pendant 48 heures, la réaction est positive s'il y a croissance de la bactérie sur le milieu, sinon la réaction est négative.

**2.10. La tolérance au sel (Mamdoh, 2001) :** La tolérance de 5 % de NaCl a été détectée par la turbidité visible après inoculation des isolats bactériens dans des tubes à essai avec le

milieu de la tolérance au sel (NaCl à 5 %), en transférant 0,1 mL d'une suspension bactérienne contenant  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> et en incubant à 27 °C pendant 14 jours. Après incubation seules les souches d'*Erwinia chrysanthemi* montrent une turbidité visible.

**2.11. Test de la transformation du sucrose :** Le test sucrose sert à déterminer si la bactérie transforme le sucrose en substances réductrices. À l'aide d'une anse à inoculer stérile, inoculer le milieu de culture liquide RS (transformation du sucrose en substances réductrices, Annexe 1) avec la bactérie à identifier (culture de 18-24 heures).

- Incuber à 26 °C pour 48 heures.
- À la suite de l'incubation, ajouter 2,5 mL du réactif de Bénédict.
- Déposer les tubes dans un bécher de 250 mL.
- Ajouter de l'eau (environ 75 mL) et amener à ébullition sur une plaque chauffante.
- Au changement de couleur du témoin positif (couleur jaune apparaissant), lire la réaction obtenue :
  - Réaction négative : le milieu reste bleu-vert
  - Réaction positive : le milieu devient jaune.

#### Réactif de Bénédict

- |   |          |
|---|----------|
| • Citrate de sodium ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) | 173 g/L  |
| • Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )  | 85,5 g/L |
| • Sulfate de cuivre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )                             | 17,3 g/L |

**2.12. Test d'utilisation du citrate (Schaad et al., 2001) :** Prélever une colonie âgée de 24 à 72 heures au moyen d'une anse stérilisée à la flamme. Ensemencer la pente gélosée contenant le milieu citrate de Simmons (Annexe 1) par strie et incuber à la température optimale de croissance de la bactérie (25 °C). Les bactéries 'citrate-positives' poussent sur le milieu de Simmons en provoquant une alcalinisation du milieu (virage au bleu de la coloration du tube). Les bactéries 'citrate-négatives' ne croissent pas sur le milieu.

**2.13. Test d'utilisation de l'indole (Freney et al., 1992) :** Ensemencer un tube de milieu urée-indole (Annexe 1) à l'aide d'une culture jeune. Incuber pendant 24 à 48 heures à 25 °C. Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs. La réaction positive se caractérise par la formation d'un anneau rouge vermillon à la surface du milieu. Le test est négatif en l'absence de coloration.

**2.14. Test d'hypersensibilité sur tabac (HST) (Schaad et al., 2001) :** Injecter une suspension bactérienne dense à environ  $10^9$  UCF.mL<sup>-1</sup> d'une culture jeune (24 à 48 heures) entre l'épiderme et le parenchyme palissadique d'une jeune feuille de tabac à l'aide d'une seringue. Le test est considéré positif s'il apparaît au bout de 24 heures, une plage nécrotique correspondant à la zone infiltrée. Le test est négatif si aucune réaction n'est observée.

**2.15. Test de production de phosphatase :** Inoculez le milieu de test avec une culture de 48 heures de la bactérie puis les incubent à 27 °C pendant 48 heures. Placer 0,1 mL d'hydroxyde d'ammonium dans le couvercle de la boîte de pétri et inverser le milieu. Après environ 30 secondes à température ambiante, les colonies positives à la phosphatase deviennent de couleur rose vif ou rouge. La couleur peut disparaître avec le temps.

#### Milieu de test

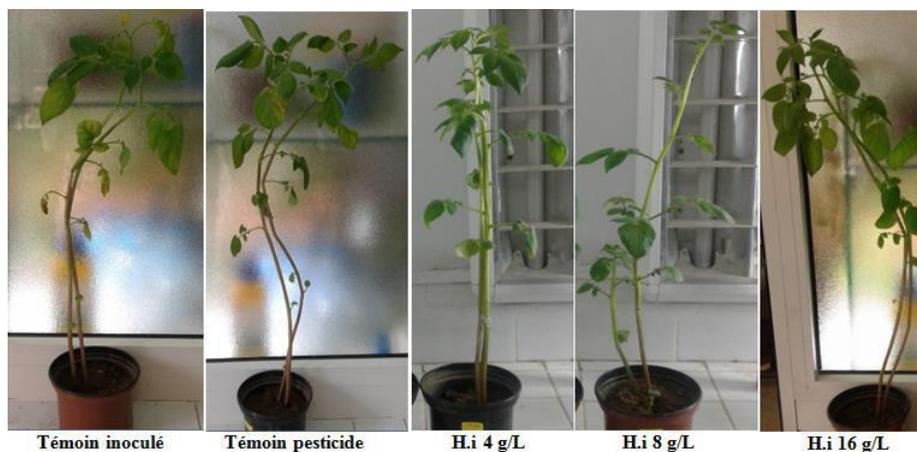
- Bacto peptone 10 g/L
- Lab-Lemco 5 g
- Sodium phenolphthalein diphosphate solution (10 %) 5 mL/L
- Agar 15 g/L

**2.16. Production d'acide à partir de Lactose, Maltose, Tréhalose et Sorbitol :** Inoculer le milieu de test avec 0,1 mL de la suspension bactérienne à  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup> à partir d'une culture jeune de 48 heures sur agar nutritif. Incuber à 27 °C pendant 7 jours. Un changement de couleur du bleu au jaune indique une réaction positive.

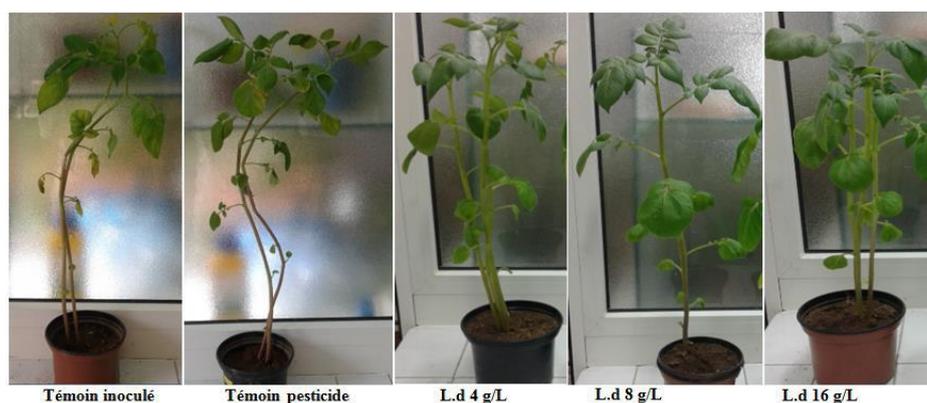
#### Milieu de test

- Bacto peptone 10,0 g/L
- Bromocresol purple indicator solution (1,5 %) 0,7 mL/L
- Organic compound stock (20 %) 50 mL/L

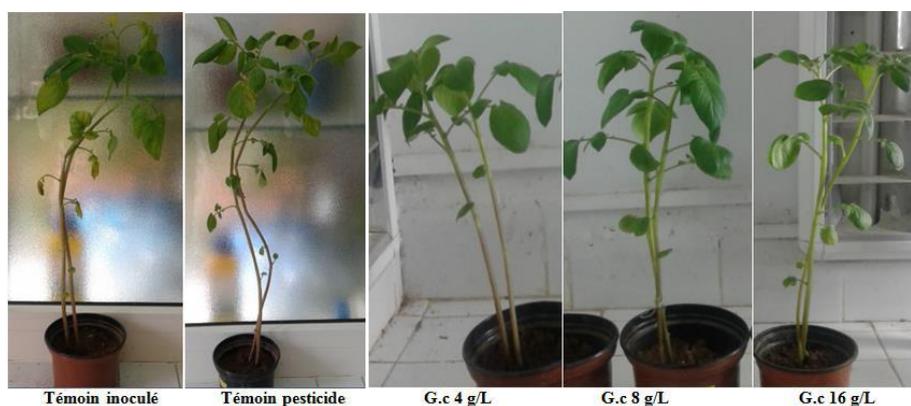
**Annexe 5 :** Illustrations du test de l'activité antibactérienne *in vivo* des différents extraits d'algues



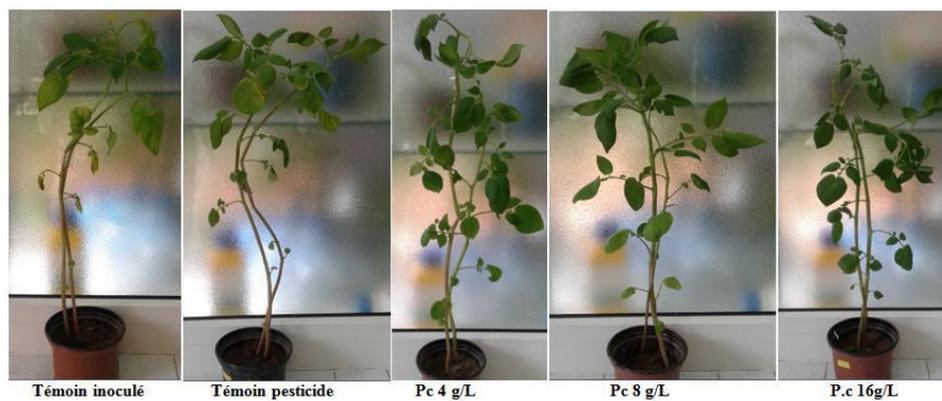
**Figure 1 :** Photographie de l'effet de l'extrait aqueux de *Halopitys incurvus* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre



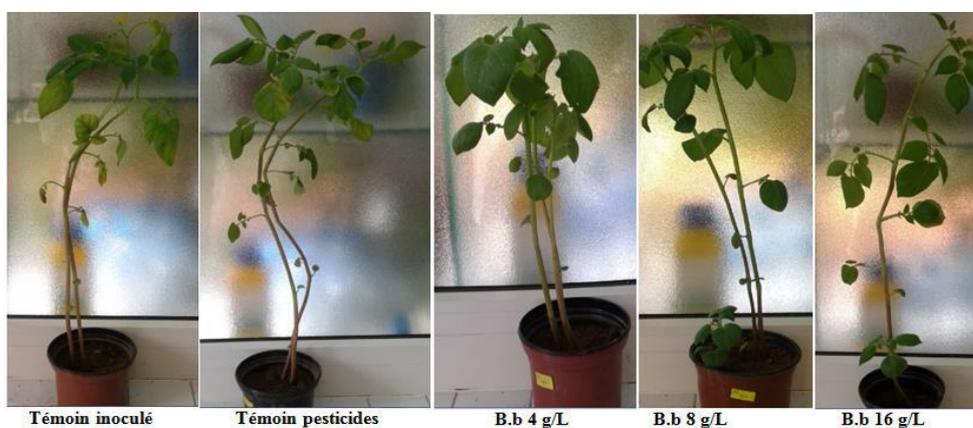
**Figure 2 :** Photographie de l'effet de l'extrait aqueux de *Laminaria digitata* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre



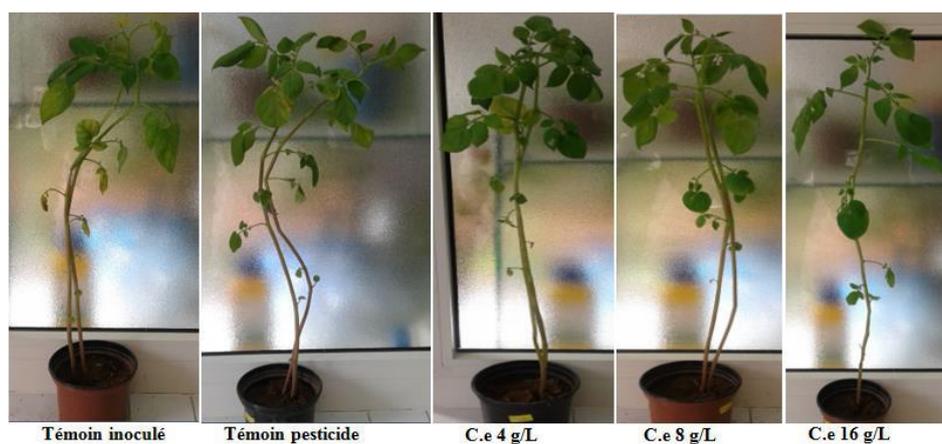
**Figure 3 :** Photographie de l'effet de l'extrait aqueux de *Gracilaria cervicornis* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre



**Figure 4 :** Photographie de l'effet de l'extrait aqueux de *Plocamium cartilagineum* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre



**Figure 5 :** Photographie de l'effet de l'extrait aqueux de *Bifurcaria bifurcata* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre



**Figure 6 :** Photographie de l'effet de l'extrait aqueux de *Ellisolandia elongata* à différentes concentrations sur les plantes de pomme de terre

## Annexe 6 : Identification des acides gras et des stérols par couplage CPG/SM

### ✓ Esters méthyliques

- Intérêt chromatographique

La transformation des acides gras en esters méthyliques (EMAG) joue un rôle important pour l'identification des AG. Les EMAG permettent à la fois d'obtenir une séparation correcte des mélanges d'acides par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et de disposer d'ions-fragments diagnostiques en couplage chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse.

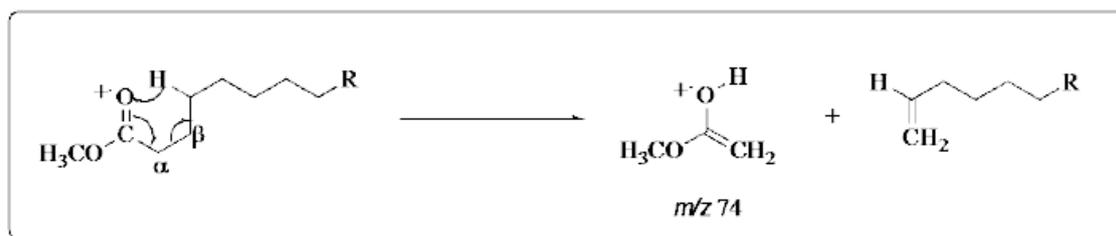
- Séparation des EMAG par CPG

La séparation des EMAG par la CPG n'est efficace que si la programmation linéaire de température est optimale. Les difficultés dans l'exploitation analytique de la CPG sont surtout constatées au tout début et vers la fin du déroulement chromatographique. Au début, le débit et l'élution des produits ne sont pas encore bien stabilisés et les produits paraissent souvent sortir très vite (et se trouvent ainsi hors de la linéarité). Vers la fin du processus, les difficultés proviennent de ce que l'on se rapproche des limites de température de tolérance de la phase et il n'est pas certain que tous les dérivés d'acides gras très longs et/ou très lourds (brome) soient observables. De plus, la phase risque de s'abîmer et de relarguer dans la colonne des composés siliconés « bleeding » qui peuvent alors gêner l'interprétation spectrale. Cette programmation linéaire de température des EMAG, 180 °C à 310 °C (3 °C/min) (température limite pour la phase utilisée), a été déjà optimisée par Barnathan (1993) en vérifiant la validité de la relation de James et Martin pour les acides gras à 20 carbones au plus et en relativisant la détermination des LCE dans ce cas.

- Identification des EMAG par la SM

L'identification des EMAG passe d'abord par la vérification qu'à chaque pic du chromatogramme (courant ionique total, CIT) correspond bien un spectre de masse exploitable. Le spectromètre de masse (impact électronique) sert de détecteur pour la CPG. C'est pourquoi à chaque pic du chromatogramme correspond un spectre de masse. D'autres composés que les EMAG sont présents car entraînés par exemple par les solvants (pourtant fraîchement redistillés) comme des phtalates, des fragments siliconés, des hydrocarbures, des aldéhydes et des diméthyl acétals provenant des plasmalogènes existant parfois dans les phospholipides. Les fragments siliconés de la phase dégradée et les phtalates donnent respectivement des fragments les plus abondants, impairs  $m/z$  133, 147, 207, 281, 429 pour l'un et  $m/z$  149 (pic de base), 167, 279 pour l'autre.

Les progrès de la technologie et de l'électronique ont permis d'apporter une solution à cette difficulté. Il est en effet possible d'enregistrer le courant ionique total (chromatogramme reconstitué), d'en faire l'étude, puis d'en extraire le courant correspondant à ceux des composants qui donnent un ion particulier dans leur spectre. Dans le cas des esters méthyliques, on choisit l'ion  $m/z$  74 qui est souvent un ion majeur, parfois pic de base, résultant du réarrangement de Mac Lafferty, pair à la différence des ions voisins (captation d'un proton en  $\gamma$  de la fonction par un échange électronique concerté à six centres (Fig. 7).

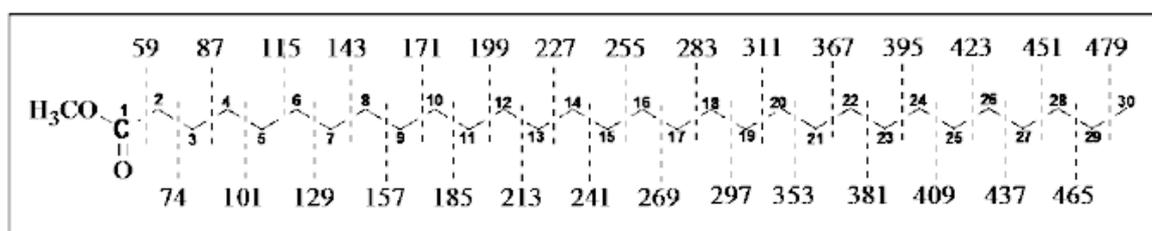


**Figure 7 :** Réarrangement de Mac Lafferty pour les EMAG.

L'étude des spectres de masse des EMAG consiste donc dans un premier temps à ranger les spectres selon l'ordre où ils sont sortis (par ordre croissant des temps de rétention) de la colonne chromatographique. C'est à partir de cette base que sont repérés leurs ions moléculaires qui permettront de déterminer la condensation en carbones de la chaîne grasse ainsi que le nombre des insaturations et la présence de ramifications. Ces relations, ainsi que les fragmentations d'une chaîne linéaire saturée, sont rappelées dans le tableau 1 et la figure 8.

**Tableau 1 :** Clés d'interprétation des spectres de masse des EMAG

Nb. C	M (EMAG)						
12	214	13	228	14	242	15	256
16	270	17	284	18	298	19	312
20	326	21	340	22	354	23	368
24	382	25	396	26	410	27	424
28	438	29	452	30	466	31	480



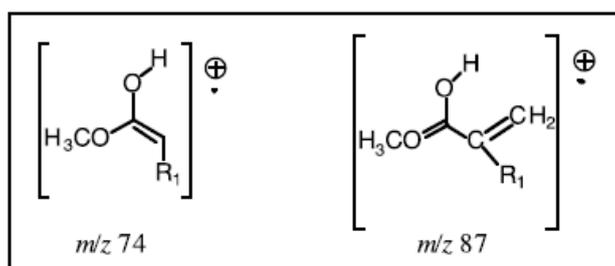
**Figure 8 :** Ions-fragments homologues des EMAG

Le tableau 1 permet de déduire rapidement la formule brute la plus probable de l'EMAG étudié. Comme il s'agit de tracer une droite de temps de rétention des EMAG saturés à chaîne

normale en fonction de longueur de chaîne équivalente (LCE), il est nécessaire d'identifier rapidement et efficacement au moins trois des spectres des EMAG saturés à chaîne normale.

La droite de régression linéaire des EMAG saturés à chaîne normale est tracée en utilisant le nombre de carbones en abscisse et le temps de rétention en ordonnée. Un certain nombre de déductions peuvent alors être faites.

Quelques acides gras (EMAG) sont correctement identifiables par leur seul spectre de masse (en accord avec la valeur de LCE). Les spectres de masse des EMAG à chaîne normale sont reconnaissables par leur ion moléculaire  $M^+$  accompagné par des pics  $[M-31]^+$  (absent ou faible lorsque la longueur des chaînes est supérieure à 24 carbones) et  $[M-43]^+$ , correspondant respectivement à la perte du radical méthoxy et d'un fragment C3. D'autres fragments de la série  $[CH_3COO(CH_2)_n]^+$ , où  $n$  correspond au nombre de carbones, sont présents dans le spectre, notamment les pics  $m/z$  87, 143 et 199 en raison de leurs fragmentations respectivement favorables (Fig. 9).



**Figure 9 :** Ions-fragments  $m/z = 74$  et  $m/z = 87$  ( $R_1=H$ )

- **Dérivés *N*-acyl pyrrolidides**

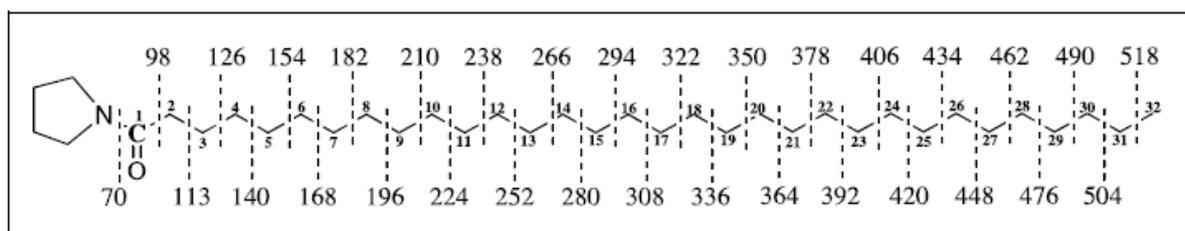
Les spectres de ces dérivés permettent d'identifier les acides gras en utilisant le tableau 2 pour une première approche rapide.

**Tableau 2 :** Clés d'interprétation des spectres de masse des *N*-acyl pyrrolidides

Nb. C	M (NAP)	Nb. C	M (NAP)	Nb. C	M (NAP)
12	253	13	267	14	281
15	295	16	309	17	323
18	337	19	351	20	365
21	379	22	393	23	407
24	421	25	435	26	449
27	463	28	477	29	491
30	505	31	519	32	533

Contrairement aux EMAG, les masses moléculaires des *N*-acylpyrrolidides sont impaires (un atome d'azote).

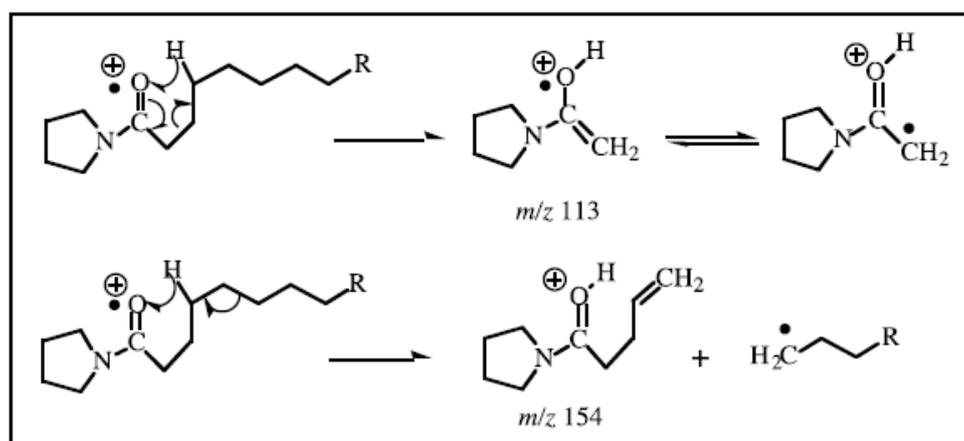
Les EMAG se fractionnent aussi bien à partir de l'extrémité fonctionnelle que de l'extrémité hydrocarbonée. Il s'ensuit que l'on dispose de très peu d'ions diagnostiques. Contrairement aux esters méthyliques, les pyrrolidides conservent l'énergie acquise au moment de l'impact principalement sur la tête polaire de la molécule et l'ion  $M^+$  va se fragmenter quasi uniquement à partir de l'extrémité fonctionnelle. Ainsi, une série d'ions-fragments espacés de 14 uma ( $CH_2$ ) est obtenue (Fig. 10).



**Figure 10 :** Ions-fragments homologues des *N*-acyl pyrrolidides

La position d'une ramification (chez les acides gras, il s'agit du groupe méthyle, sauf exception rarissime) est déterminée par le fait que l'ion homologue correspondant à cette partie de molécule est abaissé très nettement, voire disparaît, tandis que les ions homologues voisins ( $\pm 14$  uma) apparaissent plutôt d'intensité élevée, relativement au moins. L'identification d'un acide gras repose donc finalement sur l'examen des spectres de masse de l'ester méthylique et du pyrrolidide, et sur la position du pic chromatographique. La localisation d'une double liaison s'effectue par la présence d'un écart de 12 au lieu de 14 uma entre deux ions-fragments homologues successifs. L'identification d'un acide gras repose donc finalement sur l'examen des spectres de masse de l'ester méthylique et du pyrrolidide, et sur la position du pic chromatographique.

Il est très utile aussi d'observer l'incidence sur la valeur de LCE qu'entraîne la présence d'une double liaison ou d'une ramification : diminution de 0,25 à 0,50 suivant la position, plus ou moins éloignée de la fonction. Ainsi, tous les acides gras saturés (NAP) ont des fragments espacés d'un méthylène (14 uma) à partir de l'ion fragment  $m/z$  126 jusqu'à l'ion moléculaire. De plus, le pic  $m/z$  154 est souvent faible à cause de sa concurrence avec le fragment Mac Lafferty  $m/z$  113 (pic de base), il est donc moins favorisé (Fig. 11). Si cette monotonie des intervalles des fragments est rompue sur un spectre de masse des NAP, c'est que l'acide gras correspondant est insaturé. En outre, si certains pics ont des intensités très faibles ou sont absents, on peut déduire que l'acide possède des ramifications.



**Figure 11** : Réarrangement de Mac Lafferty pour les NAP et obtention du pic  $m/z$  154

- **Stérols**

- Détermination des nombres des insaturations

L'ion moléculaire ou un ion quasi moléculaire peut être visible dans le SM. Les tableaux 3 à 5 permettent de déterminer les nombres des carbones et les nombres des insaturations à partir des SM des stérols libres et des SM de leurs acétates. Ces tableaux mettent en évidence l'influence d'une double liaison en 5 ou en 7 sur la présence ou non du pic moléculaire des acétates de stérols. Ce pic est presque toujours présent pour les stérols libres mais n'apparaît sur les acétates que pour les stérols n'ayant pas d'insaturation  $\Delta 5$ . Pour ceux-là, souvent les plus fréquents, c'est le du pic  $[M-AcOH]^+$ , soit  $[M-60]^+$ , qui est observé (Goad et Akihisa, 1997).

**Tableau 3** : Détermination du nombre de carbones et du nombre d'insaturations à partir des masses moléculaires ( $m/z = M$ ) des stérols libres

nb C nb dl	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
0	304	318	332	346	360	374	388	402	416	430	444
1	302	316	330	344	358	372	386	400	414	428	442
2	300	314	328	342	356	370	384	398	412	426	440
3	298	312	326	340	354	368	382	396	410	424	438
4	296	310	324	338	352	366	380	394	408	422	436

**Tableau 4** : Détermination des nombres d'insaturations et des nombres de carbones correspondant à partir des pics moléculaires  $[M-AcOH]^+$  des acétates de stérols  $\Delta 5$

nb C nb dl	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
1	284	298	312	326	340	354	368	382	396	410	424
2	282	296	310	324	338	352	366	380	394	408	422
3	280	294	308	322	336	350	364	378	392	406	420
4	278	292	306	320	334	348	362	376	390	404	418

**Tableau 5** : Détermination des nombres d'insaturations et des nombres de carbones correspondant à partir des masses moléculaires ( $m/z = M$ ) des acétates de stérols autres que  $\Delta 5$ 

nb C nb dl	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
0	346	360	374	388	402	416	430	444	458	472	486
1	344	358	372	386	400	414	428	442	456	470	484
2	342	356	370	384	398	412	426	440	454	468	482
3	340	354	368	382	396	410	424	438	452	466	480
4	338	352	366	380	394	408	422	436	450	464	478

➤ Localisation des insaturations.

S'il est possible de déterminer, d'une part le nombre de carbones du stérol et d'autre part le nombre des insaturations que le stérol possède, la localisation de ces dernières entre le noyau tétracyclique du stérol et sa chaîne latérale est une autre étape pour la détermination complète de la structure. Pour cela, quelques pics caractéristiques des spectres de masse permettent d'y parvenir. Ainsi, un pic de forte intensité à :

- ✚  $m/z$  215 (pic de base) correspond à un stanol avec noyau tétracyclique saturé mais qui peut posséder des insaturations dans la chaîne latérale.
- ✚  $m/z$  213 correspond à un stérol  $\Delta 5$ ,  $\Delta 7$ ,  $\Delta 8$ ,  $\Delta 9(11)$ ... ayant une double liaison dans le système tétracyclique.
- ✚  $m/z$  211 correspond à un stérol possédant deux doubles liaisons dans les cycles ( $\Delta 5$ , 7,  $\Delta 5$ , 8...).
- ✚  $m/z$  209 caractérise un stérol possédant trois doubles liaisons ( $\Delta 5$ , 7, 9(11)...

• Pics de base des stérols indiqués dans la littérature.

Plusieurs pics caractéristiques d'insaturations particulières sont signalés dans la littérature. Le tableau 6 regroupe quelques pics de bases caractéristiques des formes libres et acétylées de stérols.

Tableau 6 : Quelques pics de base des stérols

Ions $m/z$ à 100%		Insaturations	Ions $m/z$ à 100%		Insaturations
Stérols libres	Stérols acétylés*		Stérols libres	Stérols acétylés	
233	215	$\Delta^0$	314	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^{5,24(28)}(Z \text{ ou } E)$
255	255	$\Delta^7(24-Me-\beta)$	$[M-Me-H_2O]^+$	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^{5,7}$
255	255	$\Delta^7(24-Et-\beta)$	$[M-Me-ROH]^+$	$[M-Me-ROH]^+$	$\Delta^{5,8}$
255	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^{5,22}$	$M^+$	55	$\Delta^7$
255	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^{5,22}(24-Me-\beta)$	$M^+$	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^5(24-Me-\alpha)$
271	55	$\Delta^{7,22}(24-Et-\beta)$	$M^+$	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^{5,22}(24-Me-\alpha)$
271	313	$\Delta^{7,24(28)}$	$M^+$	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^{5,25}(24-Et-\alpha)$
271	313	$\Delta^{7,22}(24-Me-\alpha/\beta)$	$M^+$	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^5(24-Et-\alpha/\beta)$
271	313	$\Delta^{7,22}(24-Et-\alpha)$	$M^+$	$M^+$	$\Delta^5(24-Me-\beta)$
271	313	$\Delta^{7,25}(24-Et-\alpha)$	$M^+$	$M^+$	$\Delta^7(24-Me-\alpha)$
271	313	$\Delta^{7,22,25}(24-Et-\alpha)$	$M^+$	$M^+$	$\Delta^7(24-Et-\alpha)$
271	366	$\Delta^{5,24(25)}$	$M^+$	$M^+$	$\Delta^8$
275	$[M-AcOH]^+$	$\Delta^5$	$M^+$	$M^+$	$\Delta^{8(14)}$

\*60=AcOH

**Titre :** Contribution à l'étude des potentialités antiproliférative et antibactérienne des algues brunes et rouges de la côte d'El Jadida pour une valorisation médicale et environnementale

**Mots clés :** Phytopathologie, pourriture molle (*Dickeya dadantii*), bio-pesticide, antiprolifératif contre les cellules cancéreuses de poumon, antibactérien, lipides marins

**Résumé :** L'objet de ce travail se focalise sur la recherche et la caractérisation de composés bioactifs issus d'algues de la côte marocaine. Ceci peuvent être utilisés soit en pharmacologie ou bien en phytopathologie. Le premier volet est consacré à l'étude des potentialités nutritionnelle et pharmacologiques de 6 espèces d'algues marines, parmi 24, les plus riches en lipides. La recherche des fractions actives en utilisant différentes méthodes de purification et d'essais bioguidés, ont montré une importante activité antiproliférative contre les cellules humaines du cancer du poumon (NSCLC-N6 et A549) avec une  $CI_{50} < 13 \mu\text{g/mL}$ . Ces fractions, contenant des monogalactosyldiacylglycerol font l'objet d'élucidation du point vue structural (RMN et Masse haute résolution) plus poussées. Le deuxième volet est consacré à la valorisation des algues marines en phytopathologie.

L'étude de l'activité antibactérienne a permis de déterminer *in vitro* et *in vivo* l'effet bio-pesticide des extraits d'algues rouges et brunes récoltées contre la pourriture molle de la pomme de terre causée par *Dickeya dadantii*. Leur utilisation directe sur des plantes de pomme de terre infectées par *Dickeya dadantii* comme biostimulant montre une élimination nette des symptômes de la pourriture molle et une amélioration de la croissance chez les plantes traitées. Ces derniers semblent ainsi intervenir en accélérant et en intensifiant l'enrichissement des plantes en enzymes impliquées dans la cascade de signalisation afin de stimuler les mécanismes de défenses. L'élicitation par les extraits d'algues semble donc intervenir en renforçant les mécanismes de défense des plantes de la pomme de terre contre *Dickeya dadantii*.

**Title :** Contribution to the study of the potentials antiproliferative and antibacterial brown and red algae from the El Jadida for a medical and environmental valorization

**Keywords :** Phytopathology, soft rot (*Dickeya dadantii*), bio-pesticide, antiproliferative lung cancer cells, antibacterial, marine lipids

**Abstract :** The purpose of this work focuses on the research and characterization of bioactive compounds from algae of the Moroccan coast. This can be used either in pharmacology or in phytopathology. The first part is devoted to the study of the nutritional and pharmacological potentialities of 6 species of seaweed, among 24, the richest in lipids. The search for active fractions using different purification methods and bioguide tests, showed a significant anticancer activity against human lung cancer cells (NSCLC-N6 and A549) with an  $IC_{50} < 13 \mu\text{g/mL}$ . These monogalactosyldiacylglycerol containing fractions are further elucidated structurally (NMR and high mass resolution). The second part is dedicated to the valorisation of seaweed in phytopathology.

The study of the antibacterial activity made it possible to determine *in vitro* and *in vivo* the bio-pesticidal effect of extracts of red and brown algae harvested against the soft rot of the potato caused by *Dickeya dadantii*. Their direct use on potato plants infected with *Dickeya dadantii* as a biostimulant shows clear elimination of symptoms of soft rot and improved growth in treated plants. The latter seem to intervene by accelerating and intensifying the enrichment of plants in enzymes involved in the signaling cascade in order to stimulate the defense mechanisms. Elicitation by algae extracts seems to intervene by strengthening the defense mechanisms of potato plants against *Dickeya dadantii*.