

(12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication :
MA 47390 B1

(51) Cl. internationale :
**A01N 65/03; A01N 65/03;
A01P 21/00; A01P 13/00**

(43) Date de publication :
29.07.2022

(21) N° Dépôt :
47390

(22) Date de Dépôt :
15.11.2019

(71) Demandeur(s) :
MOROCCAN FOUNDATION FOR ADVANCED SCIENCE, INNOVATION & RESEARCH (MAScIR), Rabat design Center, Rue Mohamed Al Jazouli Madinat Al Irfane, Rabat, 10100 (MA)

(72) Inventeur(s) :
MEFTAH KADMIRI ISSAM ; AASFAR ABDERRAHIM ; MZIBRA ABIR

(74) Mandataire :
AMMANI ABDELHAQ

(54) Titre : **PRODUIT A BASE D'EXTRAIT D'ALGUE POUR LE CONTROLE DE LA GERMINATION DES SEMENCES**

(57) Abrégé : La présente invention concerne un produit à base d'extraits d'algues marines, leurs procédés de préparation, et leurs applications dans le domaine agricole pour l'inhibition de la germination des semences. Selon l'invention, ces compositions sont obtenues par extraction hydrique d'au moins d'une algue rouge, de préférence Gigartina pistillata, à une température comprise entre 50 et 100 °C, pendant une durée comprise entre 2 et 8 heures.

**PRODUIT A BASE D'EXTRAIT D'ALGUE POUR LE CONTROLE DE LA
GERMINATION DES SEMENCES**

5 **Abrégé**

La présente invention concerne un produit à base d'extraits d'algues marines, leurs procédés de préparation, et leurs applications dans le domaine agricole pour l'inhibition de la germination des semences. Selon l'invention, ces compositions sont obtenues par extraction hydrique d'au moins d'une algue rouge, de préférence *Gigartina pistillata*, à une température
10 comprise entre 50 et 100 °C, pendant une durée comprise entre 2 et 8 heures.

**PRODUIT A BASE D'EXTRAIT D'ALGUE POUR LE CONTROLE DE LA
GERMINATION DES SEMENCES**

DOMAINE DE L'INVENTION

[0001] La présente invention décrit un agent et une méthode à base d'algues pour contrôler la germination des semences. Plus précisément, l'invention décrit un extrait naturel obtenu à partir de l'algue marine *Gigartina pistillata* et sa méthode d'application dans les semences pour inhiber leur germination ou stimuler leur germination pouvant être utilisé pour le contrôle de la germination des mauvaises herbes.

ETAT DE L'ART

[0002] Les produits inhibiteurs de la germination des semences de différentes cultures sont principalement basés sur des composés synthétiques ou naturels tels que les acides oxaliques, l'acide salicylique, les acides aminés, glycine, les alcaloïdes, les acides organiques ect...ou des microorganismes qui libèrent des substances inhibitrices de la germination. A titre d'exemple, le brevet KR1020010074073 décrit une souche bactérienne *Pseudomonas sp.F-721* capable de sécréter des inhibiteurs de la germination des semences. Le brevet RU2629990 revendique une méthode de traitement des semences par un agent bioactif à base de Thiofan de l'huile de tournesol et de l'eau pour inhiber leur germination.

[0003] A côté des microorganismes et des produits chimiques, des extraits obtenus à partir de semences sont également utilisés pour inhiber la germination des semences. La demande de brevet CN107494620 datée du 18/08/2018 décrit un extrait aqueux ou alcoolique obtenu à partir des semences de la plante *Zanthoxylum Bungeanum Maxim* qui joue le rôle d'inhibiteur de la germination. Les hormones jouent également un rôle important aussi bien dans la germination que la dormance des semences et le contrôle de leurs ratios à travers des applications externes d'hormones permet une optimisation de l'inhibition de la germination des semences (Nawaz et al. Pak. J. Agri. Sci. (2017) Vol. 54(2), 261-270). Parmi les hormones qui jouent ce rôle, l'acide abscissique, l'acide gibbérellique et l'acide jasmonique.

[0004] Toutefois ces solutions présentent l'inconvénient d'impliquer soit des produits chimiques qui peuvent présenter un danger pour l'environnement, ou de ses extraits naturels à partir d'autres semences de plantes ou en utilisant des microorganismes qui sont laborieux et compliqués dans le procédé d'extraction ou la quantité utilisée à cause de la fréquence d'application.

D'où l'intérêt de notre invention qui présente une solution à base de produits naturels sans recours aux produits chimiques pour inhiber la germination des graines et qui peut être appliquée pour contrôler la germination des graines des mauvaises herbes avec de faible quantités.

DESCRIPTION

[0005] La présente invention a pour objet le développement d'un produit à base d'algues marines, son procédé de préparation ainsi que son application dans le domaine agricole.

[0006] Plusieurs effets des extraits d'algues marines ont été proposés dans le domaine agricole, notamment comme stimulant de la germination, la croissance, correcteur de carence et anti-stress par voie foliaire.

[0007] La présente invention résulte de la découverte d'un extrait d'une algue marine présentant une capacité d'inhiber la germination des graines lorsqu'il est utilisé à des concentrations précises. L'extrait peut en effet contrôler la germination des graines en fonction de la concentration appliquée.

[0008] L'extrait d'algue conformément à l'invention trouvera donc son application dans le domaine agricole pour inhiber la germination des graines. L'extrait appliqué aux graines provoquent un stress inhibiteur pour la germination des graines.

[0009] Ce nouveau produit est susceptible d'être obtenu par la mise en œuvre d'une méthode d'extraction d'une algue, de préférence choisie parmi les algues rouges, à une température comprise entre environ 50°C et 100°C, et de préférence d'environ 80°C, pendant une durée comprise entre 2 et 8 heures, de préférence d'environ 2 heures ; ladite extraction étant suivie d'un ajustement de pH compris entre 6 et 8, et de préférence 6,8 puis d'une filtration ou

centrifugation. L'extrait obtenu est formé d'au moins de 20% de sucre et possède un poids moléculaire d'environ $M_w=917\text{kDa}$

[0010] Le travail consiste à appliquer l'extrait obtenu afin d'inhiber la germination des graines principalement des mauvaises herbes afin de réduire la compétition aux éléments nutritifs et permettre une meilleure installation des cultures d'intérêt.

[0012] Pour minimiser le développement des mauvaises herbes et les pertes de rendement qui en découlent, il suffit de traiter les mauvaises herbes par l'extrait d'une algue qui a été préalablement préparé à la concentration adéquate et ajouté au champ avant le semis de la culture d'intérêt par voie d'irrigation (directement dans l'eau). Le mélange de la terre par ce produit permet :

- d'inhiber la germination des graines de préférence des mauvaises herbes lorsqu'il est utilisé à la concentration adéquate;

- de stimuler la germination des graines de préférence les semences des cultures d'intérêt lorsqu'il est utilisé à la concentration adéquate.

[0013] Dans un mode de réalisation principal, l'espèce algale utilisée appartient aux algues rouges du genre *Gigartina* principalement l'espèce *Gigartina pistillata*.

[0014] Dans un aspect particulier de l'invention le traitement avec le produit d'extraits de l'algue inhibe la germination des graines jusqu'à 75% lorsqu'il est appliqué à la concentration de 0,1mg/ml par rapport au témoin non traité.

[0015] Dans un autre aspect de l'invention, le traitement avec le produit d'extraits d'algue améliore la vitesse de germination par 40% lorsqu'il est appliqué à la concentration de 0,02mg/ml.

Brève description des figures

[0016] FIG.1. Montre une photo de l'algue *Gigartina pistillata* source de cet extrait

[0017] FIG.2. Montre une dépendance dose – effet de la quantité de l'extrait de polysaccharide sur la germination des semences

[0017] FIG.3. Montre une dépendance dose – effet de la quantité de l'extrait de polysaccharide sur la vitesse de germination des semences

[0018] FIG.4. Montre le chromatogramme de la composition en sucre de l'extrait d'algue utilisé (Gal : Galactose ; Glc : Glucose ; Xyl : Xylose ; GlcA : Acide glucuronique)

[0019] FIG.5. Montre des données métaboliques des graines traitées par l'extrait d'algue à la concentration de 0,1mg/ml et 0,02 mg/ml et qui identifient des molécules de stress inhibant leur germination. La comparaison est réalisée avec le témoin non inoculé et un témoin traité par la laminarine. (ng: semences non germées / g: semences germées),

Exemples de modes de réalisation préférés de l'invention :

Exemple 1 : extraction des polysaccharides à partir de l'algue *Gigartina pistillata*

[0020] L'algue marine *Gigartina pistillata* est lavée puis séchée au soleil ou dans un four. Puis une certaine quantité de l'algue est mélangée avec un volume d'eau à raison de 1/3 poids sur volume. Le mélange est ensuite autoclavé à 121°C pendant 15min puis centrifugé. Le surnageant est mélangé avec un certain volume de l'éthanol 96%, puis l'extrait est précipité pendant une durée de temps comprise entre 8 et 16 heures à 4°C. L'extrait est récupéré par centrifugation puis séché.

[0021] Le rendement de cet extrait est compris entre 4% et 17% de poids sec. Le contenu en sucre de l'extrait est compris entre 20% à 30% (selon la méthode de Dubois et al., 1956), le contenu en protéine est de 0,04% (selon la méthode de Bradford, 1976) et le contenu en sulfate est de 4,15% (selon la méthode de Dodgson et al. 1962). Le poids moléculaire de l'extrait est de $M_w=917\text{kDa}$ et les principaux sucres constitutifs sont le galactose, le glucose, le xylose et l'acide glucuronique (FIG.1 et FIG.4).

Exemple 2 : Inhibition de la germination par application de l'extrait de *Gigartina pistillata*

[0022] Dans un mode d'application de l'extrait de l'algue *Gigartina pistillata*, une solution est préparée en utilisant la concentration de 0,1mg/ml. Cette solution est utilisée pour traiter les graines à raison de 25mL/25graines. A partir de cet exemple, le contenu de l'extrait utilisé par graine est de 0,1mg.

[0023] Après 8 jours de germination le taux de germination ainsi que la vitesse de germination sont déterminés selon les équations suivantes :

Taux de germination (%) = (Nombre des semences germées / nombre total de semence) x 100

Vitesse de germination (semence/jour) = $\Sigma(Gt/Dt)$ (Gt=nombre de semences nouvellement germées au jour t ; Dt = nombre de jour)

[0024] Les résultats ont montré une baisse significative des paramètres de germination étudiés avec une baisse du pourcentage de germination qui n'a pas dépassé 25%. La vitesse de germination a également baissé de 72% (FIG.2 et FIG.3). Cette inhibition de germination pourrait être la cause de la production de molécule de stress dans la graine suite à ce traitement, ces molécules sont Henicosane, Pentacosane, Octadecane, Heptadecane; Stigmasta 5.2 dien³ olacetate, Stigmasta 3.5 diene; 15:0 20:1, l'acide nonanoïque et l'acide azélaïque(FIG.5).

Exemple 3 : Stimulation de la germination des semences par application de l'extrait de *Gigartina pistillata*

[0024] Dans ce mode d'application des extraits de polysaccharide de l'algue rouge, une certaine quantité de cet extrait comprise entre 0,05 et 0,02 mg/ml est dissoute dans l'eau puis utilisée pour les essais de germination des semences

[0029] Les résultats de cet exemple de mode d'application de l'extrait issu de l'algue marine *Gigartina pitillataa* ont montré contrairement au premier mode d'application une augmentation des paramètres de germination avec une augmentation de la vitesse de germination de l'ordre de 40% en comparaison avec le témoin non traité (FIG.2 et FIG.3).

REVENDICATIONS :

1. Produit pour l'inhibition de la germination des semences, en particulier celles des mauvaises herbes **caractérisé en ce qu'**il est composé de sucres et de non sucres extraits à partir des algues rouges de l'espèce *Gigartina pistillata*.
2. Produit pour l'inhibition de la germination des semences selon la revendication 1, **caractérisé en ce que** ledit produit est formé d'au moins de 20% de sucre et possède un poids moléculaire d'environ Mw=917kDa
3. Produit pour l'inhibition de la germination des semences selon la revendication 2, **caractérisé en ce que** ledit produit est utilisé avec une concentration de 0,1mg par semence.
4. Produit pour l'inhibition de la germination des semences selon les revendications 1 à 3, **caractérisé en ce que** le produit est utilisé dans une solution d'irrigation avant la plantation pour inhiber la germination des semences des mauvaises herbes.
5. Produit pour l'inhibition de la germination des semences selon les revendications 1 à 3, **caractérisé en ce que** le produit est utilisé sous forme liquide ou autre forme.
6. Produit pour l'inhibition de la germination des semences selon les revendications 1 à 5, **caractérisé en ce que** le produit est sous forme d'extrait brut de *Gigartina pistillata* ou/et polysaccharides, oligosaccharides.
7. Méthode de préparation d'un produit pour l'inhibition de la germination des semences, en particulier celles des mauvaises herbes, **caractérisée en ce qu'**elle comprend les étapes :
 - de la mise en œuvre d'une méthode d'extraction d'une algue, de préférence choisie parmi les algues rouges, à une température comprise entre environ 50°C et 100°C, et de préférence d'environ 80°C, pendant une durée comprise entre 2 et 8 heures, de préférence d'environ 2heures ;
 - ladite extraction étant suivie d'un ajustement de pH compris entre 6 et 8, et de préférence 6,8
 - puis d'une filtration ou centrifugation.



FIG.1

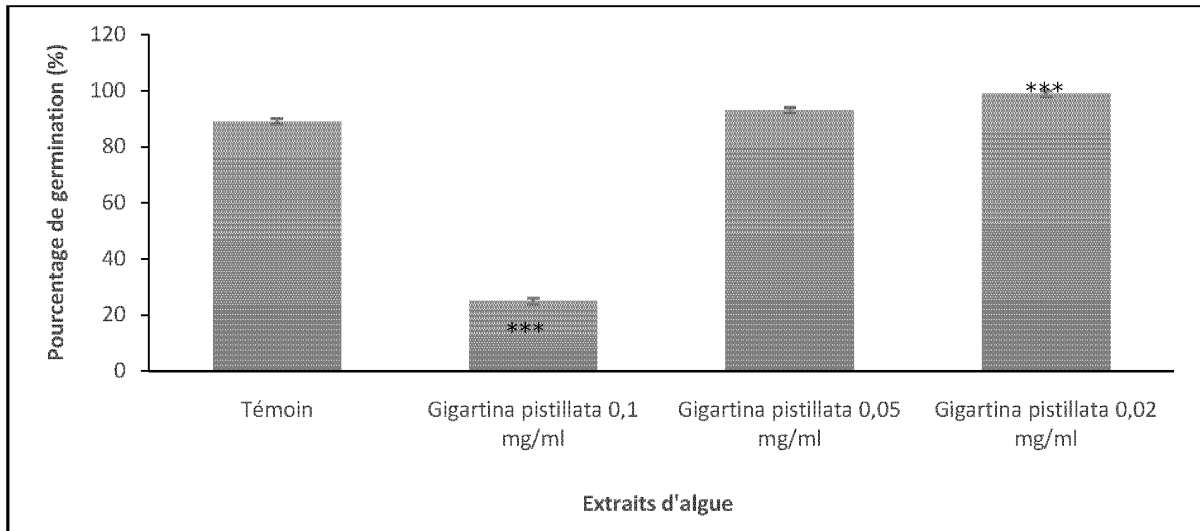


FIG.2

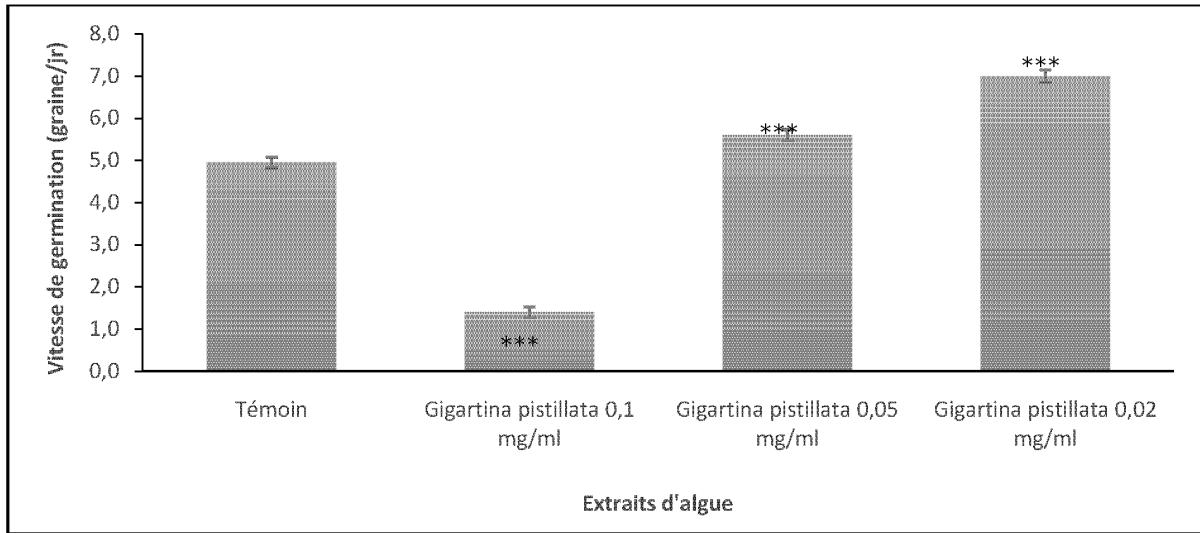


FIG.3

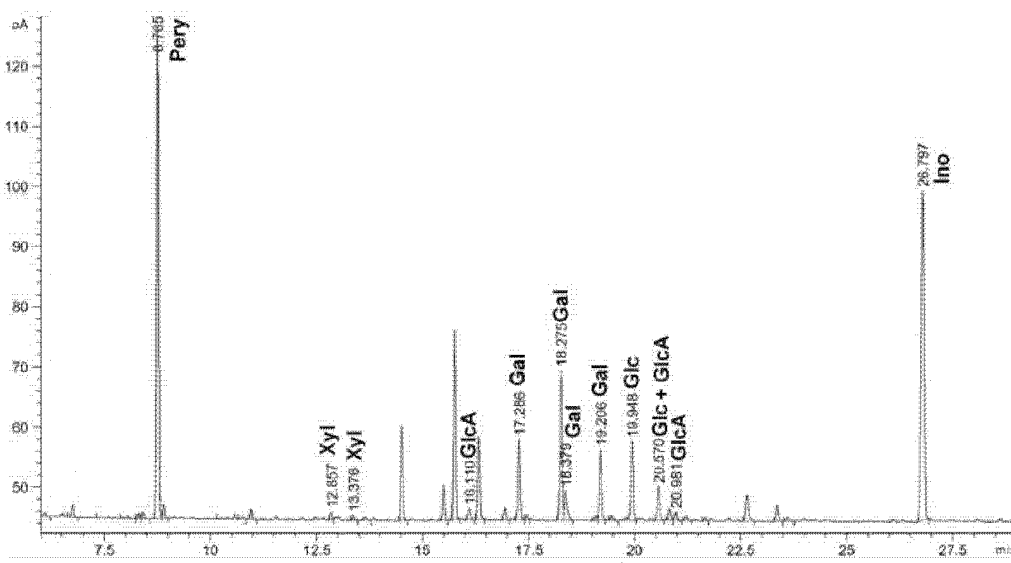


FIG.4

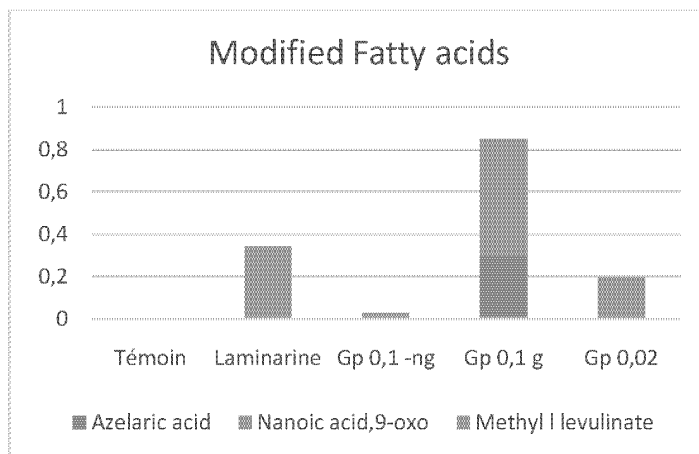
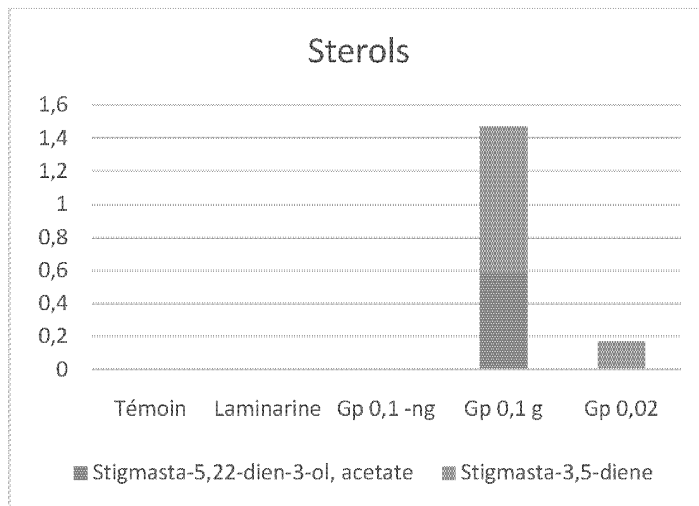
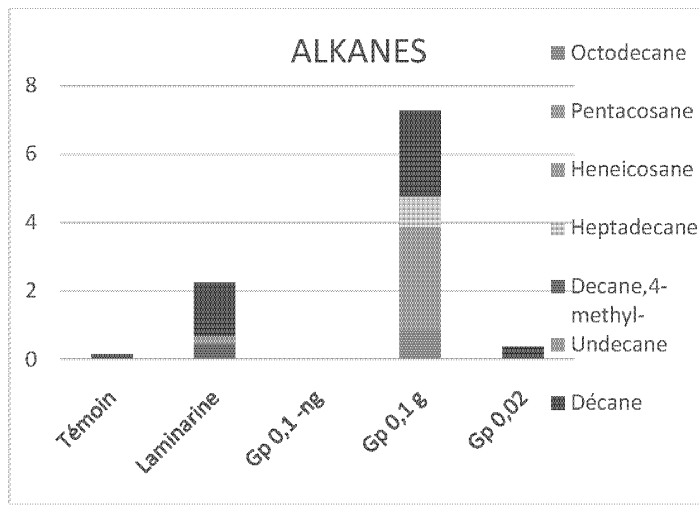


FIG.5

**RAPPORT DE RECHERCHE
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la
protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée
par la loi 23-13)

Renseignements relatifs à la demande	
N° de la demande : 47390	Date de dépôt : 15/11/2019
Déposant : MOROCCAN FOUNDATION FOR ADVANCED SCIENCE, INNOVATION & RESEARCH (MASclR)	
Intitulé de l'invention : PRODUIT A BASE D'EXTRAIT D'ALGUE POUR LE CONTROLE DE LA GERMINATION DES SEMENCES	
Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.	
Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site http://worldwide.espacenet.com , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.	
Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :	
Partie 1 : Considérations générales <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport <input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité <input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés	
Partie 2 : Rapport de recherche	
Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité <input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté <input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention <input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle	
Examineur: BRINI Abdelaziz	Date d'établissement du rapport : 17/03/2022
Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00	



Partie 1 : Considérations générales

Cadre 1 : base du présent rapport

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description
5 Pages
- Revendications
7
- Planches de dessin
3 Pages

Partie 2 : Rapport de recherche

Classement de l'objet de la demande :

CIB : A01N65/03 ; A01P13/00; A01P21/00

CPC : A01N65/03

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

Catégorie*	Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	N° des revendications visées
A	US2014357486A1; D & J AKERS PTY LTD [AU]; 04-12-2014 Document en entier	1-7
A	EP1269847B1 ; SAMABIOL [FR] ; 10-12-2003 Document en entier	1-7
A	GB2509429B ; ROTAM AGROCHEM INT CO LTD [HK] ; 21-09-2016 Document en entier	1-7

*Catégories spéciales de documents cités :

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
 -« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
 -« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
 -« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs
 -« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité**Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle**

Nouveauté	Revendications 1-7 Revendications aucune	Oui Non
Activité inventive	Revendications 1-7 Revendications aucune	Oui Non
Application Industrielle	Revendications 1-7 Revendications aucune	Oui Non

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : US2014357486A1

D2 : EP1269847B1

D3 : GB2509429B

1. Nouveauté

Aucun des documents susmentionnés ne divulgue les mêmes caractéristiques techniques telles que décrites dans les revendications 1-7, d'où celles-ci sont nouvelles conformément à l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

2. Activité inventive

Le document D1 qui est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche de l'objet de la revendication 1 divulgue une composition herbicide et son utilisation pour lutter contre ou contrôler la croissance et la prolifération des mauvaises herbes. Ladite composition comprend un mélange d'au moins un herbicide du groupe I, d'au moins un herbicide du groupe F et un extrait d'algue.

L'objet de la revendication 1 diffère de D1 en ce que la composition pour lutter contre les mauvaises herbes comprend seulement un extrait d'algue rouge de type *gigartina pistillata*.

Le problème technique que la présente demande se propose de résoudre peut être considéré comme étant la fourniture d'un produit à base d'extrait d'algue pour l'inhibition de la germination des mauvaises herbes.

La solution proposée n'est pas évidente pour la raison suivante :

Aucun des documents susmentionnés ne divulgue ni ne suggère un produit comprenant seulement un extrait d'algues de type *gigartina pistillata* pour la lutte contre la germination des mauvaises herbes tel que décrit dans la présente demande.

Par conséquent, l'objet de la revendication 1 implique une activité inventive conformément à l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13 au vu des documents D1-D3.

Les revendications 2-6 dépendent de la revendication 1 et satisfont en tant que telle aux exigences concernant l'activité inventive conformément à l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13 au vu des documents D1-D3.

Egalement, la revendication indépendante 7 concerne une méthode de préparation dudit produit décrit dans la revendication 1. Par suite, l'objet de la revendication 7 implique une activité inventive conformément à l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13 au vu des documents D1-D3.

3. Application industrielle

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.