

Metabolomics investigations of seaweed extracts used as plant growth biostimulants and transcriptomic studies of their physiological effects on *A. thaliana*

To further develop a sustainable agriculture, new bio-solutions include the use of biostimulants such as seaweed aqueous extracts to improve plant growth or/and alleviate the effect of biotic and abiotic stress. These commercial products aim to improve plant nutrition, in order to impact yield and quality parameters. In this domain, some modes of action have been proposed by the Goëmar-Arysta R&D center. However, the bioactive ingredients have not been identified so far, using classical methods of bioassay-guided fractionation. Therefore, their mechanisms of action remain also elusive.

The aim of this thesis project was first to identify, using a strategy of metabolomic profiling of seaweed extracts, the bioactive compounds responsible for plant growth stimulation. The $^1\text{H-NMR}$ -based profiling and LC-MS metabolomic analyses of commercial seaweed extracts were not suitable to identify candidate molecules that promote plant growth. A classical bioassay-guided fractionation achieved on a Goëmar extract provided a growth promoting purified fraction and further bioactive sub-fractions. The U-HPLC-HR-MS analyses of these sub-fractions highlighted two candidate molecules. A fractionation process used in this work should be patented in order to improve added-value of growth-promoting filtrate and valorize new by-products.

In parallel, the physiological effects of these seaweed extracts were studied in the model plant *Arabidopsis thaliana* through transcriptomic approaches in order to decipher patterns of gene regulation in response to a crude commercial extract and its purified fraction. The transcriptome in response to the application of seaweed extract was completely different of those obtained using its purified fraction. Genes dysregulated by this purified fraction provided potential biomarkers of plant growth that could be used. to assist the bioactive molecule isolation.

Finally these two approaches combining, metabolomics-guided and bioassay-guided fractionation of extracts from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum*, and global transcriptomics in *Arabidopsis* provided several new insights into the nature and structure of different molecules that trigger different physiological responses in plants.

Caractérisations métaboliques d'extraits algues biostimulants et analyses transcriptomiques de leurs effets physiologiques sur *A. thaliana*

Développer une agriculture durable et respectueuse de l'environnement, implique l'utilisation de biostimulants tels que les extraits de macro-algues marines dans le but d'améliorer la croissance des plantes ainsi que leur tolérance aux stress biotiques et abiotiques. Ces extraits commerciaux d'algues sont utilisés en agriculture afin de favoriser la nutrition des plantes, d'améliorer leur qualité nutritionnelle et d'accroître leur rendement. Dans ce domaine quelques modes d'action ont été élucidés par le centre R&D des Laboratoires Goëmar-Arysta. Cependant, jusqu'à présent, les matières actives n'ont pas été identifiées via une approche classique de fractionnement bio-guidé. De ce fait, leurs mécanismes d'action restent non élucidés.

L'objectif premier de ce projet de thèse était d'identifier ces molécules biostimulantes via une approche de fractionnement assistée par la métabolomique, réalisée sur des extraits d'algues commerciaux. Les analyses RMN et LC-MS réalisées sur ces extraits se sont révélées infructueuses dans l'identification de molécules candidates. Ainsi, un classique fractionnement bio-guidé a conduit à la purification d'une fraction favorisant la croissance des plantes. Les analyses U-HPLC-HR-MS réalisées sur cette fraction et ses sous-fractions ont permis d'identifier deux molécules candidates. Un procédé de fractionnement utilisé au cours de ce travail fait l'objet d'une procédure de dépôt de brevet, afin d'apporter une valeur ajoutée à ces extraits biostimulants et de valoriser de nouveaux produits.

Le deuxième objectif de ce projet, était d'étudier les réponses physiologiques de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* à l'aide d'une analyse transcriptomique. Ceci afin d'élucider les voies métaboliques régulées suite à l'application d'un extrait d'algue produit par Goëmar et d'une fraction stimulante de croissance purifiée au cours de ce projet. L'analyse du transcriptome de *Arabidopsis thaliana* révèle la régulation de voies métaboliques complètement différentes par l'extrait d'algues en comparaison de celles régulées par sa fraction purifiée. De plus, les gènes dérégulés par la fraction purifiée constituent des biomarqueurs potentiels de croissance chez les plantes qui pourront être utilisés pour assister l'isolement bio-guidé de molécules candidates.

Finalement, ces deux approches combinant fractionnement bio-guidé et analyses métabolomiques sur l'extrait d'*Scophyllum nodosum* ainsi que les analyses transcriptomiques réalisées apportent de nouvelles connaissances sur les structures et les modes d'action de molécules candidates.