



## الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية République Algérienne Démocratique Et Populaire وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار - عنابة

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR - ANNABA

Faculté des Sciences Département des Sciences de la mer Laboratoire Bioressources Marines

#### THÈSE DE DOCTORAT EN SCIENCES

#### THÈME

# ECOLOGIE ET VALORISATION CHIMIQUE DES MACROPHYTES DU GOLFE D'ANNABA, ALGÉRIE

Présentée par : Mounia AOUISSI

Soutenu publiquement le 17/09/20018

Jury de soutenance:

Prof. SERIDI Ratiba
Présidente
Prof. FRIHI Hocine
Prof. DERBAL Farid
Dr THIBAUT Thierry
Dr GERBAL Farid
Dr Co-directeur
Dr Co-directeur
Examinateur
Dr Co-directeur
Dr Co-directeur
Examinateur

Prof. SERIDI Halima Examinatrice USTHB, Alger, Algérie

Prof. BENOUARET D. Eddine Examinateur Université 8 mai 1945, Guelma, Algérie

#### À la mémoire de mon père,

En témoignage de l'amour, l'affection et le soutien que tu m'as offerts depuis ma naissance.

Pour toutes les peines et tous les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, je n'ai été guidée jusqu'à présent que par le désir de t'honorer.

Aucun mot ne saurait exprimer ma gratitude, mon amour et mon profond respect.

Repose en paix mon cher papa

Que Dieu t'accueille dans son vaste paradis.

#### À ma mère,

La plus douce des mamans.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'une grande aide, tu m'as comblée avec ta tendresse et tes sacrifices.

Tu as été très patiente et tu m'as soutenu pendant toutes mes années d'études.

Puisse Dieu, tout puissant, te prêter longue vie, santé et bonheur.

#### À mon mari,

Ta présence m'inspire la sérénité et la tranquillité de l'âme.

Merci pour tes encouragements, grâce à toi j'ai pu surmonter toutes les difficultés. Tu m'as aussi aidé à réaliser ce travail, que j'espère sera témoignage de mon profond amour pour toi.

## À mes enfants,

Syrine, Iyed et Chanez, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur.

#### À ma sœur,

Chère Samira, tu as toujours été pour moi un exemple de persévérance et de courage.

J'ai toujours su que j'ai la plus belle et la plus adorable des sœurs. Tu m'as toujours apporté amour, soutien et compréhension. Tu trouveras ici l'expression de mon profond amour et respect pour toi.

#### À mes frères,

Samir, Hacène et Nadir, merci pour vos encouragements. Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de mes sentiments et mon respect pour vous. Je vous souhaite tout le bonheur du monde.

À tous ceux qui m'ont soutenu pour réaliser ce travail.

MOUNIA

## REMERCIEMENTS

Cette recherche a été réalisée en étroite collaboration avec différents laboratoires dont le Laboratoire Bioressources marines (UBMAnnaba), le Laboratoire membre de l'OSU Pythéas au sein de l'équipe EMBIO du MIO, l'Institut Méditerranéen d'Océanographie (Aix-Marseille Université, France) et le Laboratoire de Physiologie végétale et Environnement (UBMAnnaba), dirigés respectivement par les Professeurs KARA M. Hichem, SEMPÉRÉ Richard (Directeur de Recherche au CNRS) et la Professeur SERIDI Ratiba. Je les remercie vivement de m'avoir facilité l'accès pour l'ensemble de mes expérimentations.

Mes remerciements s'adressent tout d'abord à Madame la Professeur SERIDI R. (Directrice de laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, UBMAnnaba), pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury.

Mes directeurs de thèse les Professeurs FRIHI Hocine et DERBAL Farid (Laboratoire Bioressources Marines, UBMAnnaba), malgré leurs lourdes responsabilités administratives et occupation scientifique, m'ont toujours orienté et soutenu jusqu'au bout, même durant les moments les plus difficiles de cette thèse. Ils m'ont fait profiter de leurs expériences et connaissances. Je leurs remercie de m'avoir confié ce sujet, pour m'avoir conseillé, encouragé et soutenu tout au long de la thèse avec patience et disponibilité. Qu'ils trouvent ici, le témoignage de ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi au Docteur THIBAUT Thierry (Maitre de Conférences, HDR, Aix-Marseille Université, France), qui m'a toujours réservé un accueil chaleureux au sein du laboratoire MIO. Ses compétences et conseils dans le domaine des algues m'ont été très précieux durant mes courts séjours. Ces remarques constructives me seront bénéfiques pour le reste de ma carrière scientifique.

Je remercie aussi le Professeur BENOUARET Djamel Eddine (Université 8 mai 1945, Guelma) d'avoir accepté d'évaluer cette thèse. Ses critiques et conseils dans la partie microbiologie me seront bénéfiques.

Je remercie Professeur Charles-François BOUDOURESQUE pour son aide, ses conseils et ses remarques scientifiques durant mes courts séjours au sein de son équipe EMBIO.

Je remercie également Docteur VERLAQUE Marc qui m'a beaucoup appris sur la taxonomie et l'identification du macrophytobenthos.

Je remercie Docteur BLANFUNÉ Aurélie pour sa contribution effective dans les analyses statistiques. Son aide m'a été certainement très précieuse.

Je tiens à exprimer ma vive gratitude à M<sup>me</sup> PERRET-BOUDOURESQUE Michèle qui m'a toujours facilité l'accès à la bibliothèque. Grand Merci pour ta gentillesse et ta disponibilité.

Je remercie Docteur AMRI Sandra pour ses précieux conseils en microbiologie son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail.

Je souhaite également remercier M<sup>me</sup> RACHEDI-BOUKHDIR Sameh pour ses conseils dans la partie de la phytochimie.

Je remercie Docteur BOUDINAR Ahmed Sofiane pour ses conseils et remarques dans la réalisation du manuscrit, sans oublier toute l'équipe de mes collègues, Docteurs du laboratoire Bioressources Marines, MASMOUDI Moutassim Bilah, HANNACHI Hamdi et ZAIDI Raouf pour avoir partagé avec moi les moments difficiles lors de la période d'échantillonnage et les sorties en mer.

Mille mercis ne suffisent pas pour exprimer ma grande gratitude à mes chers parents, mon mari et ma sœur qui n'ont jamais cessé de me soutenir durant ces longues années. Que ce travail de recherche soit le témoignage de ma profonde reconnaissance. Enfin, merci à toute personne ayant contribuée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre	
Fig.1.	Situation du golfe d'Annaba par rapport aux Oueds.	6
Fig.2.	Zone d'étude (Google Earth)	20
Fig.3.	Tri des échantillons d'algues et séparation de la faune associée.	22
Fig.4.	Principales étapes de la réalisation d'un herbier (Fiche réalisée par Gevaert et Goulard modifié par Aouissi).	22
Fig.5.	Zone d'étude et lieux d'échantillonnage	24
Fig.6.	nMDS à deux dimensions. (a): vecteurs de corrélation des taxons de macroalgues par rapport au site; corrélation> 0,4 (Spearman). Contrainte 2D: 0.21 (b): nuage de points nMDS à deux dimensions sur l'abondance des macroalgues dans chaque échantillon par rapport au site. 2D stress: 0.21. Chaque point représente un échantillon. Site: point gris clair = La Caroube; point gris foncé = Cap de Garde; croix noire = Port.	33
Fig.7.	Variations spatiotemporelles de la concentration des nitrates (µM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.	35
Fig.8.	Variations spatio-temporelles de la concentration des nitrites (µM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.	35
Fig.9.	Variations spatiotemporelles de la concentration de l'azote ammoniacal (µM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.	36
Fig.10.	Variations spatiotemporellse de la concentration des orthophosphates (µM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.	37
Fig. 11.	Partition de la cartographie en 4 zones de différents états écologiques.	40
Fig. 12.	Structures des principales classes de flavonoïdes (Cushnie et Lamb,2005).	55
Fig. 13.	Procédé d'évaporation avec un évaporateur rotatif.	60
Fig. 14.	Résidu final de l'Asparagopsis taxiformis après lyophilisation.	62
Fig. 15.	Test de recherche des tanins pour les trois espèces (négatif).	63
Fig. 16.	Test de confirmation sur la présence des tanins catéchiques (négatif)	63
Fig.17.	Test de recherche des Anthocyanes pour C. spongiosumet H. scoparia (positif).	64

Fig.18.	Test de recherche des Leuco anthocyanes (négatif)	64		
Fig.19.	Persistance de la mousse pour les trois espèces (le test des saponosides est positif).			
Fig. 20.	Test des Alcaloïdes pour les trois espèces avec les deux réactifs Mayer et Dragendorff est négatif.	66		
Fig. 21.	Présence de précipité jaune pour les trois espèces (test de flavonoïdes positif).	66		
Fig. 22.	Résultat de recherche des Cardinolides pour les trois espèces (négatif).	67		
Fig. 23.	Test des terpènes et des Stérols (négatif).	67		
Fig.24.	Coloration en bleu violacé pour l'A. taxiformis(positif) et négatif pour C. spongiosum et H. scoparia.	68		
Fig.25.	Test des Anthracéniques libres pour les trois espèces (négatif).	68		
Fig.26.	Test positif des O-hétérosides pour <i>C. spongiosus</i> et négatif pour <i>A. taxiformis</i> et <i>H. scoparia</i> .			
Fig.27.	Présence des C-hétérosides dans les trois espèces (test positif).	69		
Fig. 28.	Test des hétérosides à génine réduite (négatif).	70		
Fig. 29.	Test sur les Antraquinones libres (négatif).	70		
Fig. 30.	Test sur les couramines négatif pour les trois espèces.	70		
Fig. 31.	Effet antibactérien de l'extrait butanolique de l' <i>Asparagopsis taxiformis</i> sur <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 Gram <sup>-</sup> (1), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 Gram <sup>+</sup> , (2) et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 Gram <sup>-</sup> (3).	84		
Fig. 32.	Détermination de la CMI et la CMB pour les trois extraits (S1:Asparagopsis taxiformis, S2 : Cladostephus spongiosus et S3 : Halopteris scoparia) sur les 5 bactéries.	85		
Fig. 33.	Protocole expérimental de l'extraction des flavonoïdes totaux selon Harborne (1975).	123		
Fig. 34.	Méthode de diffusion en milieu gélosé	124		
Fig. 35.	Protocole de la réalisation de l'activité	126		

## LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	page
Tab.1.	Composition pigmentaire des trois groupes d'algues.	13
Tab.2.	Valeur numérique de l'état écologique de la côte (traduit de Ballesteros <i>et al.</i> , 2007).	30
Tab.3.	15 m; Haute côte : falaise supérieure à 15 m) (traduit de Ballesteros <i>et al.</i> , 2007).	
Tab.4.	Check-list des macrophytes inventoriés dans le golfe d'Annaba.	32
Tab.5.	Permutation multivariate analysis of variance (PERMANOVA) sur la transformation en racine carrée de la composition des macroalgues, en fonction du site de chaque échantillon (toutes saisons, tous sites), en utilisant les similarités S17 Bray Curtis. ***: hautement significatif.	33
Tab.6.	Permutation multivariate analysis of variance, entre chaque variable (PAIR-WIZE TEST) sur la transformation en racine carrée de la composition des macroalgues, en fonction des sites d'échantillonnage, en utilisant les similarités S17 Bray Curtis. ***: hautement significatif.	34
Tab.7.	Permutation multivariate analysis of variance, entre chaque variable (PAIR-WIZE TEST) sur la transformation de la racine carrée de la composition des macroalgues, en fonction de la saison de tous les échantillons, en utilisant les similarités S17 Bray Curtis. ***: hautement significatif.	34
Tab.8.	Valeurs saisonnières moyennes des différentes formes d'azote et de phosphore.	37
Tab.9.	Système de notation numérique pour l'évaluation de l'état écologique des eaux côtières (traduit de Orfanidis <i>et al.</i> , 2001).	38
Tab.10.	Check-list des espèces dans la zone d'étude. Le recouvrement de chaque espèce est exprimé en (%) de la surface d'échantillonnage. Les espèces sont regroupées en deux groupes d'états écologiques (ESGI et ESGII).	
Tab.11.	Indice et catégorie d'évaluation écologique des trois stations étudiées durant les 4 saisons.	39
Tab.12.	Rendement en (%) de l'extraction des flavonoïdes.	62
Tab.13.	Résultats de test sur les saponosides pour les trois espèces (positif).	65
Tab.14.	Résultats des tests chimique pour les trois espèces de macrophytes ( <i>Asparagopsis taxiformis</i> , <i>Cladostephus spongiosus</i> et <i>Halopteris scoparia</i> ).	71

Tab.15	Composition des différents milieux de culture (Joffin et Leyral, 2006).	79
Tab.16.	Classement des bactéries selon le diamètre d'inhibition (Duraffourd, 1987).	81
Tab.17.	Diamètres moyens (M $\pm$ ET) des zones d'inhibition des souches de référence testées par les 3 extraits. <b>S1</b> : Asparagopsis taxiformis, <b>S2</b> : Cladostephus spongiosum, <b>S3</b> : Halopteris scoparia.	84
Tab.18.	Résultats de la CMI et la CMB.	85

## **SOMMAIRE**

Introduction générale	1
Chapitre I: Généralité	5
1. Milieu d'étude: le golfe d'Annaba	
1.1. Caractères géographiques et hydrologiques	
1.2. Caractères physico-chimiques du golfe d'Annaba	
1.3. Historique succint sur la flore algale d'Algérie	
1.4. Définition des macrophytes	
1.5. Rôle des macrophytes	
1.6. Utilisation des macrophytes en tant que bioindicateurs et biointégrateurs	
1.7. Biologie des macroalgues	
1.7.1. Morphologie	
1.7.2. Organisation tissulaire	
1.7.3. Composition pigmentaire	
1.7.4. Cycle vital	
1.8. Biologie des phanérogames	
1.8.1. Morphologie	
1.8.2. Développement et cycle sexuel	15
1.9. Eléments d'écologie des peuplements de macrophytes	
1.9.1. Facteurs influant sur l'état des peuplements de macrophytes	
Chapitre II: Inventaire des macrophytes et impact de la pollution sur les commu macroalgales de l'infralittoral supérieur du golfe d'Annaba	
1. Introduction	
2. Matériel et méthodes	
2.1. Inventaire floristique	
2.1.1. Zones de prélèvement	
2.1.2. Matériel utilisé et techniques de prélèvement	
2.1.3 Traitament des échantillans	21

2.2.1. Choix des stations	24
2.2.2. Paramètres chimiques dosés au laboratoire	24
2.2.3. Analyses statistiques	
2.2.4. Indice d'évaluation écologique (EEI)	
2.2.5. Méthode de CARLIT	29
2.2.6. Calcul de l'indice de CARLIT	29
3. Résultats	32
3.1. Inventaire floristique	32
3.2. Impact de la pollution sur les communautés macroalgales d	de l'infralittoral supérieur33
3.3.1. Nitrates	34
3.3.2. Nitrites	35
3.3.3. Azote ammoniacal	36
3.3.4. Orthophosphates	36
4. Discussion	42
Chapitre III: Screening phytochimique et activité antibactérie	enne46
I. Screening phytochimique	46
I. Screening phytochimique	46 46
I. Screening phytochimique	46 46
I. Screening phytochimique  I. Introduction  2.1. Choix du matériel végétal	
Screening phytochimique      Introduction      2.1. Choix du matériel végétal      2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées	
1. Introduction  2.1. Choix du matériel végétal  2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées  2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan	
1. Introduction  2.1. Choix du matériel végétal  2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées  2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan  2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau	
1. Introduction  2.1. Choix du matériel végétal  2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées  2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan  2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau  2.2.3. Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh	
1. Introduction	
1. Introduction 2.1. Choix du matériel végétal 2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées 2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan 2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau 2.2.3. Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh 2.3. Screening chimique des métabolites secondaires 2.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé	
1. Introduction  2.1. Choix du matériel végétal  2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées  2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan  2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau  2.2.3. Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh  2.3. Screening chimique des métabolites secondaires  2.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé  2.3.2. Tests préliminaires sur le décocté	
1. Introduction  2.1. Choix du matériel végétal  2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées  2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan  2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau  2.2.3. Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh  2.3. Screening chimique des métabolites secondaires  2.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé  2.3.2. Tests préliminaires sur le décocté  2.3.3. Tests préliminaires sur la poudre.	
<ul> <li>2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées</li> <li>2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan</li> <li>2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau</li> <li>2.2.3. Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh</li> <li>2.3. Screening chimique des métabolites secondaires</li> <li>2.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé</li> <li>2.3.2. Tests préliminaires sur le décocté</li> <li>2.3.3. Tests préliminaires sur la poudre</li> <li>2.4. Préparation des extraits</li> </ul>	

3. Résultats	62
3.1. Rendement de l'extraction des flavonoïdes	62
3.2. Tests phytochimiques	62
3.2.1. Tanins	62
3.2.2. Anthocyanes	64
3.2.3. Leucoanthocyanes	64
3.2.4. Saponosides	65
3.2.5. Alcaloïdes	66
3.2.6. Flavonoïdes	66
3.2.7. Cardinolides	67
3.2.8. Terpènes et les Stérols	67
3.2.9. Amidon	68
3.2.10. Dérivés anthraceniques	68
3.2.11. Coumarines	70
4. Discussion	72
II. Activité antibactérienne	74
1. Introduction	74
2. Matériel et méthodes	77
2.1. Présentation des souches bactériennes	77
2.2. Description des souches bactériennes	77
2.2.1. Escherichia coli	77
2.2.2. Pseudomonas aeruginosa	77
2.2.3. Staphylococcus aureus	78
2.2.4. Enterococcus faecalis	78
2.2.5. Klebsiella pneumoniae	78
2.3. Milieux de culture	78
2.4. Préparation des solutions	79
2.5 Technique de diffusion sur milieu solide	79
2.5.1. Préparation de la gélose	79
2.5.2. Mode opératoire	79
2.5.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milie	u liquide 81
2.5.4. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)	82
3. Résultats	83

3.1. Antibiogramme	83
3.2. Détermination de la CMI et la CMB des extraits testés	85
4. Discussion	87
Conclusion générale	90
Résumés	93
Références bibliographiques	96
Annexes	123

# Introduction générale

#### Introduction générale

Le macrophytobenthos marin est représenté par les Magnoliophytes ou les phanérogames et les macroalgues (Chlorophycées ou algues vertes, Rhodophycées ou algues rouges, Phéophycées ou algues brunes). Dans les écosystèmes marins côtiers, l'existence de ce compartiment végétal est indéniable puisqu'il joue un rôle primordial non seulement dans le maintien de l'équilibre écologique (producteur primaire ou autotrophie), en tant qu'un indicateur de l'état de santé des écosystèmes marins côtiers (biosurveillance) (Ballesteros et al., 2007; Jégou, 2011; Orfanidis, 2011; Blanfuné et al., 2017), mais joue un rôle économique, notamment dans la consommation alimentaire directe (Conte et Payri, 2002; Falquet et Hurni, 2006; Marfaing et Lerat, 2007). En effet, 88% de la production mondiale des macroalgues (notamment les algues brunes et rouges) proviennent de l'algoculture ou phycoculture (> 27 millions de tonnes en 2014) et dont 70% sont dédiées à la consommation de type légume, en grande partie dans les pays d'Asie de l'Est et du Sud-Est (Chine, Indonésie, Philippines, Corée du sud et Japon), le reste provient d'Amérique du Sud, d'Afrique, d'Europe puis d'Océanie. (http://www.fao.org/fishery/docs/STAT/summary/a-5.pdf). A titre indicatif, les japonais consomment actuellement 1,4 kg d'algue (poids sec)/an/habitant (Murata et Nakazoe, 2001), soit l'équivalent de 7-9 kg frais/an/habitant, alors que la consommation algérienne en produits de la mer, tous produits confondus, n'excède guère les 5 kg/an/habitant, une valeur bien inférieure à la moyenne préconisée par l'OMS. Le reste de la production des macroalgues dans le monde est valorisée dans d'autres domaines d'intérêt économique: agro-alimentaire (extraction et purification de biomolécules), production de texturants ou phycocolloïdes (alginate, carraghénanes, agar, etc.), alimentation animale (tourteaux), santé animale (production de vaccins vétérinaires), produits pharmaceutiques et cosmétiques, biomatériaux (matières bio-plastiques), fertilisants ou encore énergies renouvelables (algocarburant, biogaz) et phytoremédiation. Des usages plus récents portent sur les nanobiotechnologies (Grognet, 2004; Anonyme, 2013) ou bien le génie génétique (IDEALG PIA, 2017).

Les algues marines ont des intérêts nutritionnels prouvés scientifiquement (Falquet et Hurni, 2006; Marfaing et Lerat, 2007) même chez les espèces invasives, étant donné qu'elles renferment de nombreux composés essentiels, comme les fibres alimentaires, les protéines (50-70% de son poids sec chez la spiruline), les acides gras polyinsaturés, les vitamines (F,

B12, K1, B9, C, provitamine A, etc.), les éléments minéraux (iode, manganèse, magnésium, calcium, fer, etc.) et antioxydants (polyphénols, caroténoïdes, etc.).

Si dans le continent asiatique les enjeux économiques sont de plus en plus florissants vis-à-vis de la production et de la production des micro- et macroalgues marines, la situation dans les pays de la rive méditerranéenne, notamment européenne, est différente puisque la valorisation des algues (micro- ou macroalgues) à l'échelle industrielle est assez récente et limitée (Lebras et al., 2014; IDEALG PIA, 2017). Pourtant, les investigations sur les peuplements algaux en Méditerranée sont assez nombreuses voire anciennes (Montagne, 1838, 1846, 1848, 1856; Debray, 1893, 1897; Seurat, 1927, 1933; Feldman, 1938; Boudouresque, 1972, 1973), sauf que la majorité des travaux sur les macroalgues se sont focalisés essentiellement sur les aspects descriptifs (inventaires) (Riadi et al., 2000; Cormaci et al., 2012; Cormaci et al., 2014), biologiques et écologiques (Porzio et al., 2011; Thibaut et al., 2015; Blanfuné et al., 2017) aussi bien en milieu ouvert qu'au sein des réserves marines ou milieux pollués (Augier et Boudouresque, 1970; Ballesteros et al., 1982; Meinesz et al., 1983; Marcot-Coqueugniot et al., 1983; Boudouresque et al., 2000; Soltan et al., 2001; Verlaque, 2001; Boudouresque et Verlaque, 2002; Seridi et al., 2007) que sur l'exploitation et la valorisation de cette ressource végétale (Gervasoni et Ritter, 2012; Loic et al., 2012; Mesnildrey et al., 2012; Maguire, 2015; Lesueur et Comparini, 2015). La valorisation et la production durable de cette ressource végétale à des fins commerciales nécessite impérativement la mobilisation de compétences scientifiques dans divers domaines de la recherche fondamentale et appliquée, notamment la recherche en génétique (formelle, quantitative, etc.), génomique fonctionnelle et post-génomique, biologie des systèmes, biochimie, biologie structurale, chimie (analytique, organique, chimie des procédés), écologie, économie et sciences sociales. D'ailleurs, un mégaprojet européen Horizon 2020 "Genial, Genetic diversity exploitation for Innovative macro-ALGalbiorefinery", regroupant différentes compétences, a été lancé en France à la Station Biologique de Roscoff. Ce projet d'une subvention estimée à 11 M€ sur 4 ans vise à développer la valorisation des cultures des macroalgues marines dans les bioraffineries en ciblant deux souches algales européennes présentant le plus d'intérêt pour ces recherches: l'algue brune Saccharina latissima et l'algue verte *Ulva* sp. Le projet IDEALG qui a pour objectif la consolidation et l'accroissement des connaissances nécessaires pour développer la filière des macroalgues en France constitue l'un des deux lauréats de l'appel à projets européen Horizon 2020 "Croissance Bleue" de 2016 (IDEALG PIA, 2017).

En Afrique du Nord, notamment en Algérie, la connaissance du macrophytobenthos est limitée à quelques travaux d'inventaires et d'écologie réalisés au centre et à l'ouest du pays et concerne aussi bien les algues (Perret-Boudouresque et Seridi, 1989; Seridi, 1990; Verlaque et Seridi, 1991; Kadari-Meziane, 1994; Ould Ahmed, 1994; Benhissoune, 2002; Seridi, 2007; Seridi *et al.*, 2007; Ould Ahmed, 2013; Sellam, 2018) que les phanérogames, en particulier la posidonie *Posidonia oceanica* (Boudouresque et Meinesz, 1982; Francour, 1990; Semroud *et al.*, 1990; Pergent *et al.*, 1993; Semroud, 1993, 1996; Boumaza et Semroud, 1998; Bouhayene, 2002; Mammeria, 2006; Boudjella, 2015).

A notre connaissance, aucune tentative d'exploitation ou de valorisation du phytobenthos n'a été initiée en Algérie, hormis quelques travaux ponctuels réalisés sur la biologie (Zellal, 2012), la contamination métallique (Ammour *et al.*, 2011; Selka, 2015) et la valeur nutritionnelle des micro- et macroalgues (El Hattab-Bouzidi, 2003; Belkadi, 2009; Tebbal, 2011; Belayachi et Belhadj Amara, 2014; Zitouni *et al.*, 2014; Zitouni, 2015). Certains auteurs se sont même intéressés à l'activité antioxydante chez les algues envahissantes, comme c'est le cas de l'algue rouge *Asparagopsis taxiformis* (Mellouk *et al.*, 2017).

Sur les côtes de l'Est de l'Algérie, hormis les travaux assez récents de Seridi (1990, 2007) relatifs à l'inventaire des algues marines benthiques des côtes algériennes, aucune étude n'a été réalisée sur la biologie et l'écologie des macrophytes côtiers de l'est algérien. Seuls Bouhayène (2002) et Mammeria (2006) se sont intéressés à la phénologie, la biomasse, la lépidochronologie et la production de *P. oceanica* dans le golfe d'Annaba, tandis Boutabia-Trea *et al.* (2015, 2017) ont étudié dans la même zone d'étude la contamination métallique en utilisant *P. oceanica* comme modèle biologique.

En se référant à l'inventaire des algues marines benthiques du littoral algérien, un total de 468 espèces a été recensé auxquelles s'ajoutent 29 nouvelles espèces et totalisent ainsi 497 espèces qui se répartissent en trois groupes systématiques dont 315 Rhodophyceae (algues rouges), 99 Phaeophyceae (algues brunes) et 83 Chlorophyceae (algues vertes) (Perret-Boudouresque et Seridi, 1989). Au cours des deux dernières décennies, de nombreuses espèces d'algues ont fait leur apparition dans le bassin méditerranéen *via* le trafic maritime et surtout le canal de Suez (espèces lessepsiennes) (Verlaque, 1994). Nous citerons l'expansion des caulerpes envahissantes (*Caulerpa taxofolia* et *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*) dans de nombreuses régions de Méditerranée y compris le long des côtes nord africaines. Sur les côtes algériennes, nous signalons la présence de *C. racemosa* sur l'ensemble des côtes algériennes après sa signalisation pour la première fois au centre par Ould-Ahmed et Meinesz

(2007), puis dans huit autres localités de la même région (Ould Ahmed et Meinesz, 2007; Seridi et Kabrane, 2010; Lamouti *et al.*, 2011) et dans trois autres secteurs à Mostaganem (Bouiadjra *et al.*, 2010) et Oran (Bentaallah *et al.*, 2017). Sa présence sur les côtes bônoises est signalée pour la première fois au cap de Garde par Belkahla (2011) entre 14 et 27 m.

Notre étude vise à établir un inventaire exhaustif des macrophytes de l'étage infralittoral des côtes est algériennes avec la recherche éventuelle d'espèces invasives. Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'impact de la pollution sur la distribution spécifique des macrophytes du golfe d'Annaba. L'étude écologique des macrophytes est complétée par une étude biochimique (screening) dans une perspective d'exploitation et de valorisation des macroalgues d'intérêt économique disponibles en quantités suffisantes le long des côtes algériennes.

Méthodologiquement, cette investigation est organisée en trois chapitres bien distincts mais complémentaires. Le premier chapitre passe en revue le milieu d'étude (caractères géographiques et hydrologiques, physico-chimie), l'historique de la flore algale d'Algérie et l'importance des macrophytes dans les écosystèmes marins côtiers, avec un intérêt particulier pour les macroalgues. Le second chapitre traite deux aspects; le premier aspect consiste à dresser un inventaire aussi exhaustif que possible des macrophytes du littoral d'Annaba en utilisant la plongée sous-marine comme méthode d'échantillonnage, et le second aspect traite de l'impact de la pollution sur les communautés macroalgales de l'infralittoral supérieur du golfe d'Annaba. Enfin, le screening phytochimique et l'activité antibactérienne sont abordés dans le dernier chapitre de cette thèse. Dans cette étude expérimentale, nous avons étudié trois espèces d'algues macrophytes disponible durant toute l'année et en quantités suffisantes dans le golfe d'Annaba: *Asparagopsis taxiformis* (rhodophytes, espèce invasive), *Cladostephus spongiosum* et *Halopteris scoparia* (Phéophytes).

Aouissi, M., 2018 4

# Chapitre I: Généralités

#### Chapitre I: Généralité

#### 1. Milieu d'étude: le golfe d'Annaba

#### 1.1. Caractères géographiques et hydrologiques

Le golfe d'Annaba est situé à l'extrême des côtes Est d'Algérie. S'étendant sur un large plateau continental allant jusqu'à 40 km à vol d'oiseau, entre les caps Garde et Rosa, le golfe est affecté par un courant permanent de direction orienté vers l'Est avec des vitesses fluctuantes selon les saisons pouvant atteindre 0.5 à 1 m/s. Ce courant démarre de la face Sud Est du Cap de Garde en direction de l'embouchure de l'Oued Mafragh (Anonyme, 1996). Il reçoit aussi les apports à l'Est par l'estuaire du Mafrag et à l'Ouest par la Seybouse (Fig. 1), auxquels il faut ajouter les rejets urbains et industriels émanant de la ville d'Annaba.

La zone Est du golfe n'est pas totalement épargnée de ces influences anthropiques, mais semble plutôt sous la dépendance des relations d'échanges avec l'estuaire du Mafrag. En effet, lors des périodes de crues, les panaches du Mafrag s'étendent sur plusieurs dizaines de kilomètres carrés entraînant d'importantes quantités de sédiments, de matières en suspension, de sels nutritifs et de divers contaminants terrestres. En période d'ouverture de l'estuaire, la frange côtière est renouvelée et enrichit par les flux estuariens au gré d'une marée biquotidienne, permettant un échange de 20 millions de m³ par jour (Khélifi-Touhami *et al.*, 2006). En phase de fermeture de l'estuaire, la côte n'est soumise qu'aux conditions atmosphériques et aux apports par les sources émergées du massif dunaire. En fait, l'estuaire du Mafrag est temporairement ouvert en hiver et au printemps sauf par année pluvieuse où il reste ouvert toute l'année.

La zone côtière de la baie d'Annaba reçoit les apports continentaux essentiellement par oued Seybouse au Sud. Cet oued s'étend sur 225 km de long et draine un vaste bassin versant d'une superficie de 6474 km², auxquels s'ajoutent les rejets urbains et industriels parvenant également du Sud. Le débit de l'oued est de l'ordre de15 millions m³.s¹ et décharge annuellement dans la baie environ un demi-milliard de mètres cubes d'eau (LCHF, 1976). Les eaux de l'oued Seybouse sont excessivement riches en nutriments (nitrites, ammonium et azote), ce qui engendre une situation d'eutrophisation du milieu (Djabri *et al.*, 1998). Cette eutrophisation qui s'étend jusqu'au littoral adjacent (Ounissi *et al.*, 1998; Frihi *et al.*, 2004) est plus marquée en période estival et s'ordonne selon un gradient Sud-Nord (Ounissi *et al.*, 1998). Le golfe d'Annaba reçoit aussi de la Seybouse des quantités excessives

Aouissi, M., 2018 5

d'azote minéral (4,3 tonnes.j<sup>-1</sup>), de phosphates (0,7 tonnes.j<sup>-1</sup>) et 2,3 tonnes.j<sup>-1</sup> de carbone organique dissous (Ounissi *et al.*, 2002).

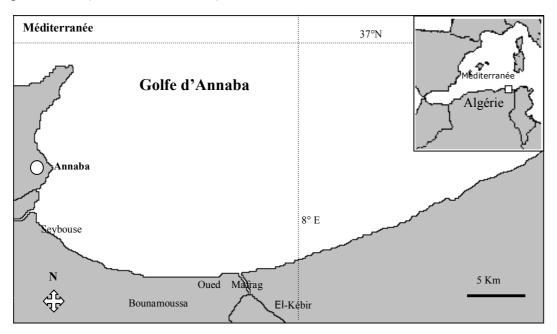


Figure 1. Situation du golfe d'Annaba par rapport aux Oueds.

#### 1.2. Caractères physico-chimiques du golfe d'Annaba

Dans le golfe d'Annaba, la température joue un rôle majeur concernant les variations de la densité de l'eau. D'après Ayada *et al.* (2018) la température moyenne des eaux du sud Est de la baie d'Annaba varie entre 14,5°C en hiver et 30°C en été avec une amplitude de 15,5°C. Comme pour la température, la salinité diffère entre les deux secteurs, les valeurs varient entre 35 à 37,5 psu avec une amplitude de 2,5 psu. Au Nord-Ouest, la salinité est sensiblement stable et varie entre 36,5 et 37,5 psu avec une amplitude réduite de 1 psu. Ces variations de salinité entre les deux régions sont dues aux rythmes du débit des oueds Seybouse et Boudjemâa. Par ailleurs, Ounissi *et al.* (1998) rapportent que l'écart thermique entre l'eau de surface et celle située à 50 m, dépasse 4°C. Quand à la salinité, la différence entre l'eau de surface et celle des profondeurs n'excède pas 1 psu.

#### 1.3. Historique succint sur la flore algale d'Algérie

Les premières investigations sur les algues marines benthiques d'Algérie remontent au XVIIIème siècle. Nous citerons essentiellement les travaux de Montagne (1838, 1846, 1848, 1856) réalisés dans la région d'Alger et ceux de Debray (1893,1897) et Seurat (1927, 1933)

dans le centre et l'ouest de l'Algérie. Par contre, les travaux sur la composition de la répartition des peuplements de phytobenthos de la côte algérienne sont très épars :

- Les signalisations de Sauvageau (1912) sur les Cystoseires de Cherchell.
- Les recherches de Feldmann et Feldmann-Maazoyer (1931 à 1961) qui ont confirmé les premières signalisations et ont poursuivi leur recherche dans le domaine de la taxonomie, et constituent l'essentiel des connaissances sur la flore algale.
- Feldmann-Mazoyer (1936 à 1949) a étudié d'une manière détaillée les Ceramiacées de l'Algérie.
- Seurat (1933) a réalisé ses études sur les algues de l'ouest algérien.
- Boudouresque (1969, 1970) s'est focalisé essentiellement sur le centre de la côte algéroise et a apporté de nouvelles contributions sur les connaissances des algues marines d'Algérie.
- Cirik et Morsli (1986) ont étudié les algues marines de la région de Béjaia.
- Perret-Boudouresque et Seridi en 1989 et Seridi (1990, 2007) établissent un inventaire exhaustif des algues marines benthiques de l'Algérie et étudient leur distribution géographique.
- Kadari-Méziane (1994), étudie l'impact de la pollution domestique sur les algues dans la baie de Bou-Ismail. Au cours de la même année, Ould Ahmed (1994) s'intéresse aux algues de la région d'Arzew (ouest algérien) et aborde le problème de l'impact de la pollution thermique sur le phytobenthos de substrat dur au niveau de cette région.
- En 2013, Ould-Ahmed réalise un inventaire des macroalgues marines benthiques Phaeophyceae d'Algérie.
- Très récemment, Sellam (2018) étudie les Fucales, avec un intérêt particulier pour les Cystoseires des côtes algéroises. Elle identifie un total de 81 espèces d'algue macrophytes y compris les phanérogames et signale de nouvelles mises à jour taxonomiques pour certaines espèces de Cystoseires entrainant ainsi un changement dans la composition algales des biocénoses benthiques.

Des études préliminaires non publiés (mémoires de fin d'étude de graduation) ont été réalisées au cours des années 1980-90, mais restent peu accessibles en raison de leur non publication, ce qui justifie l'absence d'informations sur le compartiment des macroalgues des côtes est algériennes.

Aouissi, M., 2018 7

#### 1.4. Définition des macrophytes

Les macrophytes sont des végétaux aquatiques photosynthétiques très divers dont l'appareil végétatif est appelé «thalle», avec un cycle de vie, y compris la reproduction, qui se déroule dans l'eau. La structure à la base du thalle se diffère selon l'algue (rhizoïdes, disque et crampons ou haptères) permettant l'ancrage de l'algue sur un support, si une roche (algues épilithes), ou une plante (algues épiphytes), ou un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable. Le thalle présente une grande diversité de formes selon les algues (lames simples, tubes, tiges et feuilles ou encore boulles remplies d'eau). La texture est également très variée : cartilagineuse ou spongieuse. Le nombre et le type de ramifications (insertion, organisation et hiérarchisation de ces ramifications par rapport à l'axe principal), l'apex, les formes des feuilles, les réceptacles, constituent tous des critères taxonomiques des algues. Certaines algues possèdent un thalle très rigide, suite à l'accumulation de carbonate de calcium, dans les parois de leurs cellules et d'autre algues sont entièrement calcifiées et forment des croûtes aussi dures que les rochers (Lithophyllum). Les macrophytes regroupent les macroalgues (visibles à l'œil nu, par opposition aux microalgues) et les phanérogames. Les premiers sont dépourvus de racines et produisent des gamètes et des spores pour leur reproduction tandis que les seconds sont pourvus de racines comme les plantes terrestres et produisent des graines.

#### 1.5. Rôle des macrophytes

En Méditerranée, les macrophytes jouent un rôle primordial dans le maintien de l'équilibre structural et fonctionnel de l'écosystème marin côtier. Ce sont des organismes photosynthétiques qui participent directement à l'équilibre des écosystèmes par:

- l'absorption de gaz carbonique dissous (CO<sub>2</sub>) et la forte production d'oxygène (O<sub>2</sub>).
- leur participation aux cycles de la matière, en particulier ceux du carbone, de l'azote et du phosphore, dans la colonne d'eau et les sédiments.
- leur fonction de support, d'habitat, d'abri, de frayère et de nurserie pour de nombreux invertébrés (échinodermes, annélides, spongiaires, mollusques bivalves et nudibranches, cnidaires, etc.) et vertébrés (notamment les juvéniles de poissons téléostéens).
- leur contribution comme ressource trophique pour certaines espèces phytophages (oursins, saupes, nudibranches).

- Le rôle des herbiers en tant que véritables structures de piégeage sédimentaire en réduisant l'énergie cinétique des particules transportées et en participant à l'augmentation de la transparence des eaux par la rétention de ces particules (Molinier et Picard, 1952).
- Leur atténuation de l'action hydrodynamique, comme l'action des vagues et des houles grâce à la structure du feuillage de l'herbier qui favorise la rétention des particules dans la matte, ce qui a pour effet une stabilisation des cordons sableux littoraux limitrophes, comme c'est le cas de l'herbier de la plage de la Caroube.
- L'importante production primaire des herbiers, dont la valeur moyenne est estimée à 4,2 tonnes/ha/an. Cette production est la base de nombreuses chaînes trophiques au sein de cet écosystème particulier (Pergent et al., 2008) et constitue un site de fraie et de nurseries privilégiées pour de nombreuses espèces de poissons et de crustacés d'intérêt halieutique.
- Leur pôle de biodiversité où près de 20-25 % des espèces animales et végétales de Méditerranée y sont recensées (Boudouresque *et al.*, 2006; Pithois-Mille, 2007).

#### 1.6. Utilisation des macrophytes en tant que bioindicateurs et biointégrateurs

Les caractéristiques écologiques des macrophytes permettent de les utiliser comme bioindicateurs de la qualité du milieu environnant. Certains paramètres mesurés sur les peuplements de macrophytes (Haury *et al.*, 2000; Chauvin *et al.*, 2014; Boutabia-Trea *et al.*, 2015, 2017) permettent de développer des indicateurs de la qualité du milieu en fonction de différents types de perturbations engendrées par les activités humaines (eutrophisation, contamination chimique) selon leur sensibilité ou leur tolérance vis-à-vis du facteur de nuisance. Ces indicateurs sont associés à des interprétations des données d'une zone d'étude qui permettent de qualifier l'état de santé du site concerné.

Plusieurs études ont montré également le rôle des macroalgues, comme des biointégrateurs potentiels de pollution d'origine anthropique. En raison de leur comportement sessile, ils ont la capacité de bioaccumuler de différents composants chimiques (Melville et Pulkownik, 2007). La composition chimique des tissus des macroalgues peut ainsi fournir des informations sur les sources de pollution et leurs niveaux. Certaines espèces de macroalgues, telles que les ulves, présentent de fortes capacités de bioaccumulation des métaux lourds et peuvent ainsi être utilisées en tant que biointégrateurs pour la teneur en métaux lourds du milieu aquatique (Boubonari *et al.*, 2008; Selka, 2015).

#### 1.7. Biologie des macroalgues

#### 1.7.1. Morphologie

Les macroalgues sont des végétaux aquatiques photosynthétiques très divers dont l'appareil végétatif est appelé «thalle» où la structure à la base se diffère tout dépond de l'algue (rhizoïdes, crampons, disque) permettant l'ancrage de l'algue sur un support, si ce dernier est une roche (algues épilithes), ou une plante (algues épiphytes), ou un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable.

Les macroalgues présentent des morphologies variées allant des formes macroscopiques réduites à grandes taille telles que les Laminaires. Plusieurs formes ont été décrites: filamenteuses, en lame, arborescentes et encroutântes. De même, le thalle présente une grande diversité de formes aplatis en lame, cylindriques, en tube ou filamenteux) avec des tiges et des feuilles, pourvues ou dépourvues de ramifications ou encore des boulles remplies d'eau (Valonia utricularis). La texture est également très variée : cartilagineuse (Corallina) ou spongieuse (Codium). Le nombre et le type de ramifications sont en partie responsables de l'aspect général de l'espèce. Globalement, on décrit quatre principaux type de ramification : alterné, opposé, dichotomique, verticillé. Toutefois, les ramifications ne sont pas toujours régulières et les rameaux secondaires peuvent présenter un mode de ramification différent de celui des rameaux principaux (insertion, organisation et hiérarchisation), l'apex, les formes des feuilles, les réceptacles, sont tous des critères taxonomiques principaux pour les algues. De nombreuses espèces prennent des formes différentes, en fonction du stade de développement, de la phase du cycle de vie, de la saison ou encore du biotope. Certaines algues possèdent un thalle très rigide, à la suite de l'accumulation de carbonate de calcium dans les parois cellulaires, alors que d'autres algues sont entièrement calcifiées et forment des croûtes aussi dures que les rochers et sont qualifiées d'algues calcaires (Lithophyllum).

#### 1.7.2. Organisation tissulaire

Certaines espèces de macroalgues ne possèdent qu'un seul type de tissu avec des cellules semblables (*Chaetomorpha* et *Ulva*). Généralement, ces cellules se transforment toutes en cellules reproductrices. D'autres espèces possèdent une organisation cellulaire plus complexe, avec des tissus présentant des caractéristiques et rôles différents. Les organes reproducteurs sont alors bien différenciés et peuvent constituer un caractère principal à l'identification de l'espèce (*Cystoseira* et *Sargassum*).

Les cellules se regroupent en tissus dont chacun a une fonction précise:

- *cellules corticales* (périphériques) formant un cortex avec un double rôle: protection et photosynthèse. Ce sont généralement des cellules plus petites que les autres et remplies de plastes;
- *cellules parenchymateuses* (dont les cellules péricentrales) peu différenciées, servant de remplissage et parfois de soutien avec des parois épaisses. Celles-ci ont la faculté de se remplir de substances de réserve;
- *cellules centrales* formant soit un cylindre central pluricellulaire (Cystoseires), soit une seule file longitudinale d'où partent les rameaux et le cortex (Ceramiales);
- *cellules reproductrices*, soit incluses dans le thalle (dans le cortex ou en-dessous), soit extérieures au thalle. Elles forment des organes reproducteurs distincts comme les cystocarpes des Rhodophycées ou les conceptacles des Fucales;
- *cellules différenciées* en poils absorbants dépassant du cortex dans l'eau environnante (poils des algues brunes, trichoblastes des ceramiales).

La paroi cellulaire des algues possède une architecture semblable à celle des végétaux terrestres. Elle est constituée de deux phases: une phase cristalline, qui correspond à un squelette de microfibrilles, enveloppée d'une phase amorphe, appelée également matrice prédominante. Elle se distingue cependant de celle des plantes par l'importance de la matrice sur le squelette, et par l'abondance des polysaccharides anioniques sur les polysaccharides neutres (Kloareg et Quatrano, 1988). Par exemple, les Rhodophycées (algues rouges) ont une phase amorphe importante, qui est en fait un réseau de polysaccharides sulfatés. Ainsi, on trouve généralement des galactanes (polymères de galactose), qui permettent entre autre de résister à l'immersion. Cette phase cristalline des algues, essentiellement fibrillaire et neutre, est composée de molécules telles que la cellulose, les xylanes et les mannanes, avec, selon les espèces d'algues, un polymère dominant. Contrairement à la phase cristalline, la composition de la phase amorphe est caractéristique de la nature de l'algue étudiée. Enfin, ces parois cellulaires comportent également des protéines. Celles-ci sont peu abondantes chez les algues rouges, contrairement aux végétaux supérieurs (jusqu'à 10% du poids sec de la paroi), et aux algues vertes (Cassab, 1998). Les rôles de ces protéines sont généralement limités à des rôles de transport des ions, d'adhésion cellulaire ou encore de détoxification. La protection physique du thalle de l'algue ainsi que les propriétés antifouling peuvent également être imputées à ces protéines (Craigie, 1990). La paroi cellulaire des algues possède donc un rôle spécifique, aussi bien structural que protecteur (Kloareg et Quatrano, 1988). En effet, ses composés interviennent dans la morphologie des thalles, notamment grâce à la flexibilité de

leurs propriétés colloïdales. Ils participent en outre aux échanges ioniques de l'algue avec son milieu, ce qui permet notamment d'abaisser la pression osmotique de l'eau de mer, et de réguler ainsi les pressions de turgescence dans les membranes cellulaires. Ils occupent également d'autres fonctions comme la défense face aux attaques pathogènes ou aux blessures, ou encore la protection de l'espèce (limitation de la dessiccation due à leur forte hygroscopie). Il existe une similitude entre le réseau macromoléculaire des algues et celui des végétaux supérieurs. Une représentation de la paroi primaire des végétaux supérieurs, assimilée aux trois réseaux macromoléculaires interagissant entre eux (réseau de polysaccharides fibrillaires, amorphes et réseau de protéines) (Carpita et McCann, 2000). Les polysaccharides chargés de ces parois, encore appelés phycocolloïdes par leur origine, possèdent des propriétés intéressantes puisqu'ils forment avec l'eau des systèmes colloïdaux capables de donner des gelées fermes à la température ambiante, avec les applications industrielles que cela implique, notamment en agro-alimentaire. Ils sont principalement extraits à partir de deux types d'algues. Selon Ruiz (2005), les agars et les carraghénanes proviennent des algues rouges, alors que les alginates et les fucanes sont issus des algues brunes. Les algues rouges (Rhodophycées) représentent donc une ressource végétale riche en polysaccharides.

#### 1.7.3. Composition pigmentaire

Le rôle physiologique des pigments est de capter l'énergie lumineuse. Les plastes sont parfois verts (Chlorophytes), jaunes ou bruns (Chromophytes), ou encore rouges (Rhodophytes), selon la nature des pigments surnuméraires associés à la chlorophylle (Ruiz, 2005).

Les algues vertes (Chlorophytes) sont de formes très variées et possèdent les mêmes chlorophylles que les plantes terrestres (chlorophylle a etb de couleur verte), mais également des carotènes  $\alpha$  et  $\beta$  de couleur orange et diverses xanthophylles de couleur rouge. Les chlorophylles étant largement dominantes, la couleur de l'algue est verte, quelle que soit la part relative des autres pigments dans la plante. 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 et assurent l'oxygénation des eaux.

Les algues rouges (Rhodophytes) forment un groupe très diversifié et possèdent des chlorophylles a et d, des carotènes  $\alpha$  et  $\beta$  et des pigments surnuméraires: phycocyanine de couleur bleue et phycoerythrine de couleur rouge. Ces deux derniers pigments étant

abondants, la couleur de l'algue est un mélange de vert, d'orange, de bleu et de rouge. La couleur est due à la proportion variable entre les chlorophylles vertes, toujours présentes, et les autres pigments. Pour un même individu, la couleur peut varier au cours du temps ou selon l'exposition des filaments au soleil. Un thalle peut présenter plusieurs couleurs. Par exemple, on trouve souvent des thalles rouges dans leur partie à l'abri du soleil et jaunes dans leur partie exposée. Ceci est lié à la distribution des pigments colores qui sont plus abondants en faible lumière.

Les algues brunes (Chromophytes) possèdent des chlorophylles a et c, du carotène β et un pigment surnuméraire, la fucoxanthine (= pheoxanthine), qui masque les autres pigments dont la couleur est jaune ou marron clair. La couleur de la plante varie donc du vert-marron au brun rouille, se rapprochant de celle de nombreuses algues rouges. Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines. Les pigments non chlorophylliens captent l'énergie lumineuse et la transmettent a la chlorophylle a, qui seule permet la photosynthèse (Tab.1).

**Tableau 1.** Composition pigmentaire des trois groupes d'algues.

	Chlorophytes	Rhodophytes	Chromophytes
Chlorophylles	a + b	a + d	a + c
Carotènes	α+ β	α+ β	В
Pigments		Phycocyanine	Fucoxanthine
surnuméraires		Phycoerythrine	rucoxantinne

#### 1.7.4. Cycle vital

Il s'agit d'une multiplication soit asexuée qui consiste en une fragmentation de thalle aboutissant à la formation de plusieurs organismes identiques, soit sexuée est souvent réalisée par la formation de cellules spécialisées ou spores. Donc, la majorité des espèces de macroalgues réalisent la reproduction sexuée et asexuée tout au long de l'année. La reproduction sexuée comprend deux phénomènes fondamentaux: la fécondation et la méiose. Une partie du cycle se fait donc sous forme diploïde (2n chromosomes) et une autre partie sous forme haploïde (n chromosomes). Les macroalgues se reproduisent de façon sexuée et produisent ainsi des gamètes. Ensuite, les gamètes males et femelles fusionnent pour donner

naissance à un zygote qui peut réaliser directement la méiose ou engendrer un thalle qui la réalisera. Les modalités de réalisation de la méiose et de formation des gamètes varient selon les groupes d'espèces. Les macroalgues se reproduisent également de façon asexuée (reproduction végétative) et effectuent des mitoses à partir de thalles diploïdes (2n) ou haploïdes (n). La reproduction asexuée peut également se faire par fragmentation des thalles. Les cycles de reproduction les plus fréquemment rencontrés sont (1) cycle à une génération ou monogénétique, (2) cycle à deux générations ou digénétique, (3) cycle à trois générations ou trigénétique.

- Cycle à une génération ou monogénétique (*Codium*, *Cystoseira*, *Sargassum*): On trouve des réceptacles aux extrémités de la plante diploïde (2n). A maturité, après la méiose, ces réceptacles libèrent des gamètes (mâles et femelles) qui fusionnent dans l'eau pour former un zygote. Le zygote se fixe sur un substrat solide pour donner une nouvelle plante.
- Cycle à deux générations ou digénétique (*Ulva, Cladophora, Dictyota*): La plante diploïde (2n) (sporophyte) forme des spores (n) par méiose. Les spores sont libérés dans l'eau, se fixent et engendrent des plantes haploïdes (gamétophytes). Ces gamétophytes libèrent des gamètes (formés par mitose) qui fusionnent pour donner un zygote (2n), qui donnera une nouvelle plante (un sporophyte 2n).
- Cycle à trois générations ou trigénétique (algues rouges): La plante diploïde (sporophyte appelé tétrasporophyte, car les spores se forment par groupe de quatre) forme des tétraspores haploïdes par méiose. La cellule qui a réalisé la méiose et qui contient les tétraspores s'appelle un tétrasporocyste. Une fois libérées, les tétraspores se fixent et forment des plantes haploïdes (gamétophytes mâles et femelles). Seul le gamétophyte mâle libère des gamètes qui viennent fusionner avec le gamète femelle reste fixe sur le gamétophyte femelle pour donner un zygote. Le zygote forme un tissu diploïde (carposporophyte) qui reste fixé sur le gamétophyte femelle. On appelle cystocarpe l'ensemble du carposporophyte et de son enveloppe protectrice. Le carposporophyte libère des spores diploïdes (carpospores 2n), qui germeront en tétrasporophytes.

#### 1.8. Biologie des phanérogames

Les phanérogames marines peuvent couvrir de grandes surfaces avec des densités importantes, formant alors de véritables prairies sous-marines communément nommées "herbiers".

#### 1.8.1. Morphologie

Contrairement aux macroalgues, dont les morphologies sont très variables, les phanérogames sont toutes bâties selon le même modèle: racines-tiges-feuilles.

- des racines qui puisent dans le sol l'eau et les nutriments dissous (sels minéraux),
- des tiges horizontales et/ou verticales (rhizomes), enfouies ou à la surface du sédiment,
- des feuilles qui assurent l'activité photosynthétique.

L'organisation et la structure cellulaire des phanérogames marines sont comparables à celles des phanérogames terrestres, avec des tissus et des cellules spécialisées.

#### 1.8.2. Développement et cycle sexuel

Chez les phanérogames, contrairement aux macroalgues, un seul type de cycle de reproduction sexuée existe (digénétique hétéromorphe). La méiose a lieu au moment de la formation du sac embryonnaire dans le pistil (organe femelle) et du pollen dans l'étamine (organe mâle). A partir du printemps, les plantes forment des tiges fertiles qui portent les inflorescences (epi: succession d'étamines et de pistils). Le pollen, gamétophyte mâle entrainé par les mouvements de la masse d'eau, féconde le pistil des plantes voisines. Quelques mois plus tard, les fruits ainsi formés tombent sur le sédiment. Le fruit (akène) contient la graine qui germera pour développer une tige horizontale (rhizome), des racines plongeant dans le sédiment et des faisceaux de feuilles dressées dans la colonne d'eau.

#### 1.9. Eléments d'écologie des peuplements de macrophytes

Il existe des interactions fortes entre les macrophytes et leur milieu. En particulier, quand un écosystème évolue d'un état jeune et instable vers un état d'équilibre durable, la richesse spécifique tend naturellement à s'accroître et les liens trophiques deviennent plus complexes (parasitisme, symbiose). D'autres paramètres, comme la composition des peuplements ou l'abondance (recouvrement, biomasse), permettent d'évaluer l'état des peuplements de macrophytes. Les facteurs pouvant impacter cet état peuvent être d'origine naturelle ou anthropique.

#### 1.9.1. Facteurs influant sur l'état des peuplements de macrophytes

#### 1.9.1.1. Facteurs d'origine naturelle

La lumière et les nutriments sont les éléments essentiels à la vie des macrophytes. Les facteurs qui influencent la répartition des espèces sont:

#### • Facteurs physiques et chimiques (abiotiques)

**Lumière:** c'est le facteur essentiel au développement des macrophytes car elle est indispensable à la réalisation de la photosynthèse. L'intensité et la qualité de la lumière ainsi que la photopériode sont des éléments qui influencent fortement la composition et l'abondance des peuplements.

**Profondeur et turbidité:** elles déterminent l'accès à la lumière et donc la réalisation de la photosynthèse, leur répartition verticale est influencée par la présence de la lumière qu'elles absorbent.

**Nutriments:** la capacité d'absorption des nutriments varie selon les espèces. En cas d'apports excessifs, certaines espèces peuvent rapidement proliférer aux dépens des autres, on parle dans ce cas d'espèces opportunistes.

**Hydrodynamisme:** l'agitation faible de l'eau, permet le développement des espèces non fixées, mais l'action des courants et des vagues peut déplacer les peuplements et parfois conduire à des accumulations de végétaux. Ces facteurs sont indispensables aux macrophytes car l'agitation de l'eau permet la diffusion des substances nutritives. Il est à noter que l'hydrodynamisme, lié aux vagues, à la marée et aux courants, crée une force d'arrachement ce qui a conduit les macrophytes à s'adapter aux modes battus et aux modes calmes.

Salinité et température: la salinité varie en fonction des apports d'eau douce du bassin versant, l'importance des précipitations et du processus d'évaporation durant l'année. La majorité des espèces de macrophytes qui vivent dans les lagunes sont tolérantes aux variations de salinité (*Ruppia*). Certaines espèces ont plus d'affinité pour les milieux d'eau douce (potamot *P. perfoliatus*) ou les milieux salés (zoostères, cymodocés). Quant à la température, elle influe sur l'ensemble des processus métaboliques et reproducteurs. Certaines espèces préfèrent les eaux plus chaudes et se développent donc préférentiellement en été.

**Substrat:** les populations de phanérogames se forment et se développent sur un substrat meuble (sable, vase) et parfois sur substrat dur comme c'est le cas dans la région d'El-Kala (Pergent *et al.*, 1993). Les macroalgues se développent, dans un premier temps, sur un support dur (roches, structures immergées, coquilles de mollusques, coques de bateaux, débris divers).

#### • Facteurs biotiques

La compétition entre espèces animales ou végétales pour l'habitat, pour la lumière et les nutriments, intervient dans la composition des peuplements. Certaines espèces animales consomment les macrophytes (oursins, gastéropodes et poissons) (Keats *et al.*, 1987; Breugnot *et al.*, 2004).

#### 1.9.1.2. Impacts anthropiques

Les activités humaines, peuvent être favorables ou défavorables à l'équilibre du compartiment macrophytes.

#### • Impacts liés aux usages du milieu

Certaines activités récréatives peuvent impacter les peuplements de macrophytes comme la planche à voile et le mouillage des bateaux dans les zones d'herbier pouvant conduire à leur arrachage. D'autre part, certaines pratiques de pêche, comme l'abandon de filets de pêche (filets maillants fixés) peut conduire à l'accumulation et le transfert accidentel des macrophytes surtout lorsqu'il s'agit d'espèces exotiques. La pêche par dragage peut également avoir un impact négatif sur les peuplements de macrophytes. Les bateaux participent activement (balastage) à l'introduction d'espèces exotiques de macrophytes, qui peuvent potentiellement développer des comportements envahissants (Boudouresque et Verlaque, 2002; Dewarumez et al., 2011).

#### • Impacts liés aux aménagements et rejets

Contaminations chimiques: la présence à des certaines concentrations des métaux lourds, peut induire une inhibition de la croissance (Stromgren, 1980; Amada Filho *et al.*, 1997), une diminution de l'efficacité photosynthètique (Andrade *et al.*, 2004), avec des effets létaux (Haritonidis *et al.*, 1983; Gerbal et Verlaque, 1995). Les autres familles de contaminants peuvent également avoir un impact néfaste sur les macrophytes. Les herbicides peuvent, par exemple, engendrer l'inhibition de la photosynthèse des herbiers (Haynes *et al.*, 2000).

**Apports nutritifs:** liés aux rejets urbains, agricoles ou industriels, les apports nutritifs constituent la principale pression pesant sur les macrophytes. En cas d'apports excessifs d'azote et de phosphore, le milieu peut évoluer vers des états eutrophisés, avec un impact sur la richesse spécifique, l'abondance et la composition des peuplements (Breugnot *et al.*, 2004; Beisel *et al.*, 2011). Ces états d'eutrophisation sont souvent responsables de prolifération de populations de microalgues toxiques (Dinoflagellés) ayant un impact négatif sur les activités conchylicoles.

Chapitre II: Inventaire des macrophytes et impact de la pollution sur les communautés macroalgales de l'infralittoral supérieur du golfe d'Annaba

## Chapitre II: Inventaire des macrophytes et impact de la pollution sur les communautés macroalgales de l'infralittoral supérieur du golfe d'Annaba

#### 1. Introduction

En Méditerranée l'ensemble des activités humaines sont responsables de la dégradation des écosystèmes côtiers marins (pollution, destruction des habitats, tropicalisation, surpêche). Ces perturbations affectent la structure des communautés benthiques, notamment le recrutement de nouvelles espèces et la compétition entre les espèces résidentes ainsi que la perturbation des organismes par la prédation et/ou les facteurs environnementaux (Richmond *et al.*, 1991), bien que la pollution influence également sur le développement de ces communautés (Meyer-Reil *et al.*, 2000). Les changements dans le développement des communautés benthiques causés par la pollution organique sont souvent obscurcis par les interactions entre l'enrichissement en nutriments et une gamme de facteurs écologiques (Mayer-Pinto *et al.*, 2003). Aujourd'hui, l'eutrophisation causée par des charges excessives de nutriments organiques et inorganiques constitue l'une des principales menaces anthropiques pour la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes marins côtiers (Rabalais *et al.*, 2009).

Les macrophytes benthiques sont d'excellents indicateurs de la qualité de l'eau (Belsher, 1977; Diez *et al.*, 1999) et sont par conséquent utilisés dans les évaluations écologiques comme bioindicateurs de l'état écologique (Bricker *et al.*, 1999; Gibson *et al.*, 2000). Ils ont un rôle physico-chimique en améliorant la clarté de l'eau grâce à la stabilisation des sédiments et agissent comme des constructeurs de l'écosystème; ils constituent un substrat pour l'épiphyton, occupent une position clé dans la chaîne trophique et constituent des habitats essentiels pour les invertébrés et les poissons (Haury *et al.*, 2008, Delmail, 2011). Ils sont également d'excellents indicateurs de la qualité de l'eau en raison de leur sédentarité, ils intègrent les effets de l'exposition à long terme aux nutriments et/ou autres polluants entraînant une diminution voire une disparition des espèces les plus sensibles et leur remplacement par des espèces hautement résistantes (Murray et Littler, 1978). Par conséquent, l'étude des communautés macroalgales devient intéressante pour apprécier les changements de la qualité de l'eau (Fairweather, 1990).

Cependant, plusieurs franges de cette biodiversité se dégradent, très souvent inconsciemment, par des actions incompatibles avec une conservation des écosystèmes marins. Une partie importante de cette dégradation est le résultat des rejets directs des eaux

usées industrielles et domestiques dans le milieu marin côtier sans aucun traitement. En fait, il y a une nécessité d'investigations sur les effets délétères des facteurs de stress sur le macrophytobenthos. Cependant, le diagnostic de l'état écologique est souvent une tâche difficile en raison de la variabilité spatiale et temporelle des caractéristiques de la communauté algale (Orfanidis *et al.*, 2001).

Notre étude consiste dans un premier temps à dresser un inventaire exhaustif des macroalgues des côtes d'Annaba en effectuant une étude comparative du peuplement algal entre un site éloigné de l'action anthropique (cap de Garde zone de référence) et un site soumis aux activités anthropiques. Pour le site anthropisé, nous avons choisi la plage La caroube une zone urbanisée et le port comme zone fortement urbanisée.

#### 2. Matériel et méthodes

#### 2.1. Inventaire floristique

Notre premier objectif consiste à dresser un check-list des macroalgues dans les sites d'étude, sans estimation d'abondances. Bien évidemment, un inventaire peut être exhaustif ou orienté sur des espèces ou des peuplements particuliers (exp.: espèces patrimoniales, espèces non-indigènes). Un état bibliographique des lieux doit être réalisé au préalable pour compléter les informations disponibles en termes d'inventaires antérieurs, de types d'habitats et de phénologie (saisonnalité du cycle de vie, exp.: périodes d'apparition ou de reproduction) des espèces que l'on s'attend à rencontrer. Pour compléter les données bibliographiques, des repérages sur le terrain peuvent être effectués pour identifier les différentes zones d'habitat. Les inventaires floristiques sont restitués sous forme de liste des espèces présentes (voir Tab.4).

#### 2.1.1. Zones de prélèvement

Les stations délimitées doivent répondre à plusieurs critères. En effet, les milieux accidentés (rochers) sont parmi les systèmes côtiers les plus productifs: le cap de Garde (7°47′6.00′'E - 36°57′41.30′'N) est soumis pratiquement en permanence (à l'exception de quelques journées d'été), à un vent régulier (nord-ouest), puissant, voir violent et le caractérise par une flore parfaitement adaptée au mode battu du site. Les sites retenus se caractérisent également par des profondeurs variables qui permettront une étude bathymétrique qui est l'un des caractères indispensables pour l'identification des espèces de macrophytes. L'échantillonnage s'est effectué dans l'étage infralittoral à partir de 40 m jusqu'aux plus

petites profondeurs sur des transects linéaires distants de 5 m entre chaque prélèvement. Le site du rocher de la Kiane (7°47'4.51''E- 36°58' 30.34''N) se distingue par un mode battu et une profondeur importante dépassant 40 m, tandis que le site Vivier (7°47'23.82''E-36°58'5.04''N) présente également un mode battu contrairement au site Belvédère (7°46'22.87''E-36°56'46.89''N) qui se caractérise par un mode calme.



Figure 2. Zone d'étude (Google Earth).

#### 2.1.2. Matériel utilisé et techniques de prélèvement

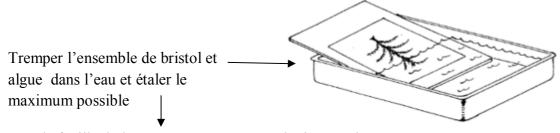
L'inventaire des macrophytes s'est effectué sur la base d'échantillons prélevés en plongée avec scaphandre autonome entre 0 et 40 m de profondeur (tranche bathymétrique de 5 m), en utilisant un quadra de 25 cm de côté pour délimiter la surface d'échantillonnage afin de minimiser le mode destructif de la flore et de la faune associée. En utilisant un grattoir métallique inoxydable de 5 cm de largeur, nous prenons soin de récupérer la totalité du thalle et le plus de variétés possibles, les individus doivent toujours être très soigneusement prélevés avec leur base, celle-ci étant souvent un caractère fondamental de reconnaissance et d'identification. Chaque quadrat échantillonné est photographié avec un appareil photographique numérique étanche. Chaque échantillon d'algues récupéré est placé soigneusement dans des sachets codés. Les échantillons frais se conservent bien dans des sacs en plastique simplement humectés. Il est possible de les maintenir ainsi dans le bas d'un réfrigérateur pendant 2 à 3 jours dans une cuvette contenant de l'eau de mer.

#### 2.1.3. Traitement des échantillons

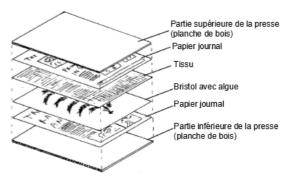
Au laboratoire, les échantillons d'algues sont soigneusement triés avec une séparation éventuelle de la faune associée qui sera étudié ultérieurement dans d'autres thèmes de recherche. La reconnaissance des espèces de macrophytes nécessite souvent un examen microscopique, parfois une coupe transversale. L'identification des espèces s'est effectuée en utilisant des guides et des manuels taxonomiques appropriés: guía de las masroalgas y fanerógamas marina del mediterráneo occidental; Green seaweeds of Britain and Ireland; Seaweads of the British Isles, Volume I Rhodophyta, Part 2B Corallinales, Hildenbrandiales; Seaweeds of the British Isles, Volume I Rhodophyta, Part 3A Ceramiales; Seaweads of the British Isles, Volume 3 Fucophyceae (Phaeophyceae), Part I; Seaweads of the British Isles, Volume I Rhodophyta, Part I Introduction, Nemaliales, Gigartinales; Seaweads of the British Isles, Volume I Rhodophyta, Part 2A Cryptonemiales (sensustricto), Palmariales, Rhodymeniales. Après identification jusqu'à l'espèce, les échantillons ont été mis en collection dans un herbier de référence du golfe d'Annaba. Cet herbier peut être constitué lors de la mise en œuvre de l'inventaire floristique et permettre de conserver des échantillons des espèces récoltées pour une étude ultérieure des structures et des organes de reproduction. Elle permet également d'aborder les aspects de la systématique des grands groupes de macrophytes. Les échantillons séchés peuvent être réhydratés dans l'eau de mer pour des observations microscopiques ultérieures.



Figure 3. Tri des échantillons d'algues et séparation de la faune associée.



Oter la feuille de l'eau, poser un morceau de tissu au dessus et placer l'ensemble entre deux feuilles de papier journal



**Figure 4.** Principales étapes de la réalisation d'un herbier (Fiche réalisée par Gevaert et Goulard modifié par Aouissi).

Une plaque en verre ou en plastique demi immergée, permet l'étalement de l'échantillon. On glisse sur la surface de la plaque une feuille de bristol ou de papier qu'il est très important de mouiller complètement. On dépose ensuite l'échantillon prélevé en s'efforçant, à l'aide d'un pinceau et de pinces, de lui conserver un aspect aussi caractéristique que possible (en

détachant quelques rameaux si nécessaire). Ensuite, on retire doucement le bristol portant l'échantillon en égouttant le tout que l'on place sur un lit de papier journal. On recouvre d'un morceau de tissu propre et l'on place une nouvelle couche de papier absorbant préparant la pose de l'échantillon suivant (Fig. 4). A la fin de l'opération, le tout est recouvert d'une planche lestée d'un poids. Il faut changer les feuilles de papier quotidiennement pour éviter la moisissure de l'échantillon. Au bout de 8 à 10 jours, les algues sont sèches. On peut alors retirer les tissus et conserver les échantillons séchés à l'ombre (pour la préservation des pigments) et en dehors de l'humidité. Chaque échantillon d'algue doit être étiqueté (date, lieu et profondeur de la récolte) pour une identification ultérieure. L'eau utilisée pour le rinçage et le nettoyage des algues a été stockée dans des bouteilles pour déterminer chaque organisme qui s'y trouve (invertébré, ...) destinée à d'autres thèmes de recherche pour l'étude de la faune associée.

# 2.2. Impact de la pollution sur les communautés macroalgales de l'infralittoral supérieur du golfe d'Annaba

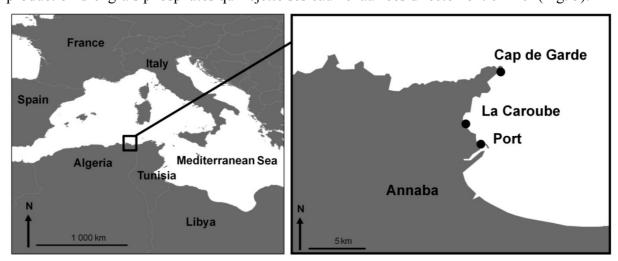
Cette étude a été réalisée entre avril 2014 et février 2015 (tous les échantillons ont été collectés et triés pendant quatre saisons: printemps, été, automne et hiver) dans trois sites du golfe d'Annaba (Sud Est Méditerranéen) (Fig. 5). L'échantillonnage saisonnier est important parce que (1) les eaux polluées sont des milieux de changements environnementaux temporels et ainsi les changements des communautés (2) plusieurs espèces opportunistes existaient aussi dans les écosystèmes seins par un calendrier saisonnier adéquat où elles dépendent des ressources environnementales (Orfanidis *et al.*, 2003).

Des échantillons d'algues ont été prélevés dans la zone infralittorale supérieure, car la végétation de cet étage peut être considérée comme un système bien défini, facilement accessible et capable d'exprimer le stress anthropique (Panayotidis *et al.*, 2004). Dans chaque site, trois zones ont été choisies distantes au moins de 100 m l'une de l'autre. L'échantillonnage était destructeur; tous les organismes ont été retirés de la roche à l'aide d'un grattoir métallique, marteau et burin; à partir de trois quadrats de 20x20 cm placés au hasard. Cette superficie est considérée comme la zone d'échantillonnage minimale représentative des communautés de l'infralittoral de la Méditerranée (Dhont et Coppejans, 1977, 1979). Les échantillons ont été conservés dans du formol dilué avec l'eau de mer à 4%. En laboratoire, les macrophytes ont été lavés à l'eau du robinet pendant quelques secondes puis triés et identifiés au microscope. Les espèces difficiles à identifier ont été systématiquement

résumées au niveau générique en tant que 'spp'. Leur abondance a été estimée en termes de couverture (pourcentage de projection horizontale) (Boudouresque, 1971; Verlaque, 1987), la surface a été mesurée après l'étalement de l'algue dans un bac de laboratoire. Le nombre de quadrats était estimé à 27 pour chaque saison avec un total de 108 quadrats représentant les quatre saisons. Pour les analyses chimiques, deux éléments ont été choisi, l'azote (N) et le phosphore (Tab. 8).

#### 2.2.1. Choix des stations

Au total, trois stations ont été échantillonnées entre avril 2014 et février 2015 dans le golfe d'Annaba, les caps de Garde (8 ° 15 'E, 36 ° 68' N) à l'ouest et Rosa (7 ° 16 'E, 36 ° 38' N) à l'est (Fig. 1). La première station (site A), a été choisie comme référence (absence de pollution), la seconde, La Caroube (Site B) (7 ° 57 'E - 36 ° 55' N), est située dans une zone urbanisée où se situe un rejet d'eaux usées, rejeté directement dans la mer sans traitement préalable, et le troisième site (site C) (7 ° 46 'E - 36 ° 45'N), au voisinage du port, une zone fortement polluée, est située dans la zone Est du golfe d'Annaba. Ce site reçoit les rejets urbains du quartiers centre d'Annaba sans traitement préalable et les eaux de lavage des huiles, les graisses, les peintures des bateaux et parfois des déchets de ballasts et de chalutiers, ainsi que les rejets de l'usine des huiles alimentaires SOGEDIA, et FERTIAL, une unité de production d'engrais phosphatés qui rejette ses eaux chauffées directement en mer (Fig. 5).



**Figure 5.** Zone d'étude et lieux d'échantillonnage (●).

# 2.2.2. Paramètres chimiques dosés au laboratoire

Pour effectuer le dosage des quatre sels nutritifs (azote ammoniacal, nitrites, nitrates et orthophosphates), nous avons prélevé au niveau de chaque station un volume d'un litre et demi d'eau au moyen d'une bouteille en plastique. Les bouteilles fermées hermétiquement de

manière qu'il n'y ait aucune bulle d'air (Rodier *et al.*, 1978), sont numérotés, étiquetés puis gardées à l'obscurité et à basse température (≈ 4°C) dans une glacière hermétique. Au laboratoire, les échantillons sont filtrés à travers un filtre Whatman GF/C (0,45 μm). Les dosages ont été réalisés sur le filtrat selon les méthodes colorimétriques décrites par Aminot et Kérouel (2004a) qui restent jusqu'à présent une des plus rapides et des plus simples pour le dosage des sels nutritifs dans l'eau de mer.

#### 2.2.2.1. Azote ammoniacal

Pour désigner l'azote ammoniacal, on utilise souvent le terme d'ammoniaque qui correspond aux formes ionisées (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et non ionisées (NH<sub>3</sub>) de cette forme d'azote (Rejsek, 2002). Le principe de base du dosage est basé sur la réaction de Berthelot où l'ammoniaque en milieu basique réagit avec l'hypochlorite pour former une monochloramine, puis successivement avec deux molécules de phénol pour former le bleu d'indophénol (Solorzano, 1969). La composition et la préparation des réactifs nécessaires au dosage de l'azote ammoniacal sont représentées dans l'annexe.

La réalisation du dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon d'ammonium qui nécessite la préparation de 6 concentrations (0; 0,2; 0,5; 1; 2 et 5 µmol/L) en fioles jaugées à partir de la solution diluée d'ammonium à 500 µmol/L. Afin de réaliser la courbe d'étalonnage, nous avons préparé une solution étalon diluée d'ammonium (c.f la composition et la préparation en annexe). Les étapes du dosage s'appliquent aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon en respectant les étapes suivantes:

- Transférer 100 ml de la solution à doser dans un flacon approprié;
- Ajouter 5 ml de la solution de phénol- nitroprussiate ;
- Mélanger, puis ajouter immédiatement 5 ml de la solution complexante au chlore ;
- Mélanger puis placer les flacons à l'abri de la lumière à température ambiante au moins 6 heures;
- La lecture s'effectue contre un blanc préparé dans les conditions identiques avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser. La densité optique est mesurée à une longueur d'onde λ = 630 nm;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en  $NH_4^+$ );
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sont exprimées en μM.

• La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'annexe.

#### **2.2.2.2.** Nitrites

Le principe du dosage des nitrites (NO<sub>2</sub>) est basé sur la réaction de Griess où le nitrite réagit avec une première amine aromatique pour former un diazoïque qui est couplé à une seconde amine aromatique pour produire une coloration rose (Bendschneider et Robinson, 1952). La composition et la préparation des réactifs nécessaires au dosage sont représentées dans l'annexe.

La réalisation du dosage nécessite la préparation d'une gamme étalon de nitrite, nécessitant la préparation de 5 concentrations (0; 0,1; 0,2; 0,5 et 1 µmol/L) en fioles jaugées à partir de la solution étalon diluée de nitrite à 50 µmol/L. Afin de réaliser la courbe d'étalonnage, nous avons préparé une solution étalon diluée de nitrite dont la composition et la préparation sont représentées dans l'annexe. Les étapes du dosage s'appliquent aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon en respectant les étapes suivantes :

- Transférer 50 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 1 ml de la solution de sulfanilamide, puis mélanger ;
- Attendre 2 à 5 min puis ajouter 1 ml de la solution de N naphtyléthylènediamine ;
- Mélanger, puis laisser agir 10 minutes ;
- La lecture s'effectue contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser, la densité optique est mesurée à une longueur d'onde  $\lambda = 543$  nm ;
- Tracer la droite étalon : Absorbance = f (concentration en  $NO_2^-$ );
- A partir des résultats obtenus sur la gamme étalon chacun des échantillons est alors déduit ; les concentrations obtenues en NO<sub>2</sub><sup>-</sup> sont exprimées en μM ;
- La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'annexe.

#### **2.2.2.3.** Nitrates

Le dosage des nitrates a été réalisé selon la méthode de Gales (1974) dont le principe de base repose sur la réduction quasi quantitative du nitrate en nitrite, le dosage nécessite une colonne en verre remplie de cadmium, le remplissage de la colonne et son activation ont été réalisés selon la méthode décrite par Aminot et Kérouel (2004a). La composition

et la préparation des réactifs nécessaires au dosage des nitrates sont représentées dans l'annexe. Les étapes du dosage sont les suivantes :

- Transférer 100 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 2 ml de la solution de chlorure d'ammonium ;
- Mélanger puis ajouter 2 ml de la solution d'hydroxyde de sodium ;
- Passez l'échantillon sur la colonne de cadmium (débit de 20 à 30 ml/min) ;
- Récupérer les premiers 30 ml sortant de la colonne pour le rinçage du récipient destinée au dosage ;
- Récupérer ensuite les 50 ml de l'effluent sortant de la colonne dans le récipient rincé ;
- Doser les nitrites formés lors du passage de l'échantillon sur la colonne;
- La concentration des nitrites mesurés est la somme de la concentration en nitrate initial du milieu réduit et du nitrite initiale du milieu ;
- La concentration du nitrate est déduite par soustraction de la concentration initiale des nitrites de la concentration mesurée en nitrites.
- Les concentrations obtenues en NO<sup>3-</sup> sont exprimées en μM.

# 2.2.2.4. Orthophosphates

Le dosage des orthophosphates a été réalisé selon la méthode d'Hansen et Robinson (1953) dont le principe est basé sur la réduction des ions orthophosphates avec une solution acide contenant des ions de molybdate et d'antimoine pour former un complexe d'antimonylphosphomolybdate. L'addition de l'acide ascorbique donne un complexe de molybdène coloré en bleu (c.f. composition et préparation des réactifs dans l'annexe).

Ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon d'orthophosphates, nécessitant la préparation de 5 concentrations (0; 0,1; 0,2; 0,5 et 1 µmol/L) en fioles jaugées à partir de la solution diluée d'orthophosphates à 50 µmol/L. Afin de réaliser la courbe d'étalonnage nous avons préparé une solution étalon dilué d'orthophosphates dont la composition et la préparation sont représentées dans l'annexe. Les étapes du dosage s'appliquent aux filtrats d'échantillons et à la gamme étalon dont les étapes sont décrites comme suites :

- Transférer 50 ml de l'échantillon à doser dans un récipient approprié ;
- Ajouter 2 ml de la solution d'acide ascorbique ;
- Mélanger puis attendre 15 min ;
- Ajouter 2 ml de la solution acide de molybdène et d'antimoine ;

- Laisser réagissait 5 min ;
- La lecture s'effectue contre un blanc préparé dans les mêmes conditions avec de l'eau distillée remplaçant l'échantillon à doser. La densité optique est mesurée à une longueur d'onde λ = 880 nm;
- A partir des résultats sur la gamme étalon, chacun des échantillons est alors déduit ;
   les concentrations obtenues en PO<sub>4</sub><sup>3</sup>-sont exprimées en μM.
- La représentation graphique de la courbe d'étalonnage est représentée dans l'annexe.

# 2.2.3. Analyses statistiques

Afin de comparer la composition spatio-temporelle (3 sites et 4 saisons) des algues, nous avons réalisé une analyse PERMutational multivariate ANalysis Of VAriance (PERMANOVA) (Anderson, 2001), basée sur les matrices de similarité S17 Bray Curtis (Clarke et Warwick, 1994; Clarke et Gorley, 2006). Les valeurs P ont été obtenues par 999 permutations de résidus sous un modèle réduit. Les effets possibles des paramètres environnementaux ont été analysés à l'aide d'une approche exploratoire multivariée utilisant la mise à l'échelle multidimensionnelle non métrique (nMDS) (Clarke et Gorley 2006). Les matrices de mesure de similarité ont été calculées à partir de la matrice de données initiale contenant pour chaque échantillon le pourcentage de chaque algue, après transformation de la racine carrée. La mesure de similarité choisie était la similitude de S17 Bray Curtis (Clarke et Warwick, 1994; Clarke et Gorley, 2006), nMDS représente les échantillons en tant que points dans un espace de faible dimension, de sorte que les distances relatives de l'ensemble des points sont dans le même ordre de rang que les similarités relatives des échantillons. Enfin, pour chaque échantillon (site et saison), les corrélations du substrat macroalgal avec le tracé d'ordination 2-D des échantillons ont été tracées en affichant des vecteurs de corrélation. La corrélation de Spearman a été utilisée.

L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel XL STAT 2014 en utilisant les méthodes non paramétriques. L'analyse de la variance (test de Kruskal -Wallis) a été utilisée pour comparer la variation intersaisons et interstations. Le test a été réalisé à un niveau de signification de  $\alpha = 0.05$ .

# 2.2.4. Indice d'évaluation écologique (EEI)

L'abondance des deux groupes d'états écologiques (ESG I, ESG II) et l'indice d'évaluation écologique (EEI) pour chaque site ont été calculés (Orfanidis *et al.*, 2001, 2003, 2008, 2011). Afin d'établir un indice écologique représentant le degré de stress dans chaque échantillon, les moyennes de pourcentage de recouvrement de chaque espèce ont été classées en deux groupes ESG I et ESG II (ESGI: groupe d'espèces sensibles à la pollution; ESGII : groupe d'espèces opportunistes résistantes à la pollution). Au total, on obtient cinq catégories écologiques (ESC): mauvaises, faibles, modérées, bonnes et élevées, que nous avons classé respectivement aux valeurs de EEI: 2, 4, 6, 8 10.

#### 2.2.5. Méthode de CARLIT

L'échantillonnage consiste à évaluer en un seul parcours toute la côte au moyen d'une petite embarcation motorisée, et ce le plus près possible du littoral. Les communautés littorales et sublittorales supérieures sont identifiées et notées directement sur un affichage graphique (cartographies aériennes). Ce support graphique possède une échelle appropriée et adapté pour être utilisé sur le terrain. Le résultat final est une partition du rivage rocheux dans plusieurs secteurs, chacun caractérisé par une catégorie communautaire (qui se caractérise par une seule communauté ou une combinaison de communautés). Pour cette présente étude, nous avons choisi le golfe d'Annaba (Sud-Est de la Méditerranée) étant donné qu'il présente une forte hétérogénéité morphologique côtière, et constitue ainsi une excellente portion maritime pour valider les performances des nouvelles méthodologies de suivi environnemental.

#### 2.2.6. Calcul de l'indice de CARLIT

La méthode CARLIT signifie évaluation de l'état écologique des masses d'eau côtières dans une zone d'étude (Ballesteros *et al.*, 2007). Les communautés spécifiques de macrophytes sont prises en compte en respectant un niveau décroissant de sensibilité (de 20, très sensible, à 1, non sensible). Pour chaque situation géomorphologique, la longueur de la côte occupée par chaque communauté d'espèce a été mesurée et la valeur de qualité écologique (QE) a été calculée à l'aide de la formule: EQ ssi =  $\Sigma$  (lj \* SLj) /  $\Sigma$ lj où :

i : est la situation géomorphologique

EQssi : est la valeur de qualité écologique de la situation géomorphologique i

lj : est la longueur du littoral avec l'espèce ou la communauté j

SLj : est le niveau de sensibilité de l'espèce ou de la communauté j et lj est la longueur totale du littoral occupé par la situation géomorphologique i.

Le EQR (Ecological Quality Ratio) d'une situation géomorphologique d'une côte est calculé avec les QE mesurés, (EQssi) et le QE des sites de référence correspondant à la même «situation géomorphologique» avec les espèces et communautés de plus haut niveau de sensibilité (EQrsi) (Tab. 3).

Le EQR d'une côte est calculé selon la formule suivante:

 $EQR = \Sigma ([(EQ ssi / EQ rsi) * li]) / \Sigma li$ 

i : est la situation géomorphologique.

EQssi : est le QE sur le site d'étude pour la situation géomorphologique i

EQrsi est le QE sur les sites de référence pour la situation géomorphologique i

li est la longueur côtière occupée par la situation géomorphologique i

( $li = \Sigma lj$ ) et  $\Sigma li$  est la longueur totale du littoral de la côte.

Le EQR est exprimé par une valeur numérique comprise entre 0 et 1.

L'état écologique de la côte est défini par Ballesteros (2007) (Tab. 2).

**Tableau 2.** Valeur numérique de l'état écologique de la côte (traduit de Ballesteros *et al.*, 2007).

EQR	Statut écologique
1 to 0,75	Elevé
0.75  to > 0.60	Bon
0.60  to > 0.40	Modéré
0.40  to > 0.25	Pauvre
0,25 to 0,0	Mauvais

**Tableau 3**. Valeurs de la qualité écologique (EQrsi) calculées pour les six relevés des situations géomorphologiques dans les conditions de référence (Côte basse: falaise inférieure à 15 m; Haute côte : falaise supérieure à 15 m) (traduit de Ballesteros *et al.*, 2007).

Relevé de situation	Morphologie côtière	Substrat	$\mathrm{EQ}_{\mathrm{rsi}}$
géomorphologique (i)			
1	Blocs décimétriques		12,1
2	Côte basse	Artificiel	11,9
3	Haute côte		8,0
4	Blocs décimétriques		12,2
5	Côte basse	Naturel	16,6
6	Haute côte		15,3

Dans la présente étude, nous avons appliqué la méthode CARLIT simplifiée par Blanfuné *et al.* (2017). Les relevés des situations géomorphologiques identifiées par Ballesteros *et al.* 

(2007) selon la morphologie du littoral et les substrats naturels/artificiels, n'ont pas été modifiés, sauf que les situations géomorphologiques ont été prises en compte lorsque le substrat artificiel peut être colonisé comme substrat naturel avec le temps (Tab. 3). Les espèces et communautés prises en compte selon un niveau de sensibilité décroissant (de 20, très sensible à 1, non sensible) et sans prendre en compte certaines espèces citées par Ballesteros et al. (2007) (ex: Cymodocea nodosa, Zostera noltei, Posidonia oceanica et Lithophyllum byssoides). Concernant le classement des espèces de macrophytes en ESGI et ESGII, dans notre cas d'étude, les espèces opportunistes comme Corallina ceaspitosa, Amphiroa beauvoisii et Jania rubens ont été classé dans le groupe ESGII au lieu de les classer dans le groupe ESGI comme l'exemple de Ballesteros et al. (2007) et Blanfuné et al. (2017).

# 3. Résultats

# 3.1. Inventaire floristique

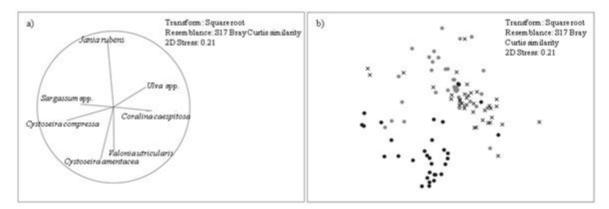
Au total, nous avons inventorié dans le golfe d'Annaba entre 0 et 40 m de profondeur 90 espèces rattachées à 4 groupes (Tab. 4): Chlorobiontes, Rhodobiontes, Phaeophycées (Ochrophytes = Chromobiontes) et Magnoliophytes (annexe).

Tableau 4. Liste des macrophytes inventoriés dans le golfe d'Annaba.

Chlorobiontes (12 espèces)	Rhodobiontes (45 espèces)	Phaeophycées (31 espèces)	Magnoliophytes
Acetabularia acetabulum	Amphiroa rigida	Cladostephus spongiosum	Cymodocea nodosa
Caulerpa cylindracea	Amphiroa beauvoisii	Cladostephus hirsitus	Posidonia oceanica
Cladophora sp.	Amphiroa rubra	Cystoseira amentacia	
Codium adhaerens	Amphiroa sp.	Cystoseira algeriensis	
Codium bursa	Alsidium corallium	Cystoseira compressa	
Codium fragil	Asparagopsis taxiformis	Cystoseira elegans	
Codium vermilara	Bornetia secundiflora	Cystoseira montagnei	
Dasycladus vermicularis	Bonnemaisonia asparagoides	Cystoseira sauvageauana	
Flabellia petiolata	Bonnemaisonia sp.	Cystoseira zosteroides	
Halimida tuna	Condracanthus acicularis	Colpomenia sinuosa	
Ulva sp.	Centroceras gasparrinii	Colpomenia peregina	
Valonia utricularis	Centroceras sp.	Dictyota dichotoma	
	Ceramium tenerrumum	Dictyota dichotoma var. intricata	
	Ceramium sp.	Dictyota fasciola	
	Chondria sp.	Dictyota implexa	
	Corallina caespitosa	Dictyota linearis	
	Corallina sp.	Dictyota spiralis	
	Gelidium spinosum	Dictyopteris polypoides	
	Gelidium bipectinatum	Halopteris filicina	
	Delesseria sp.	Halopteris scoparia	
	Halopithys incurva	Taonia atomaria	
	Hildenbrandia sp.	Nereia filiformis	
	Hypnea musciformis	Phyllariopsis brevipes	
	Hypnea spinella	Padina pavonica	
	Jania adhaerens	Sargassum vulgare	
	Janiarubens var. rubens	Sargassum sp d'Algérie	
	Janiarubens var. corniculata	Sargassum hornschuchii	
	Jania sp.	Sargassum sp.	
	Kallymenia lacerata	Scytosiphon lomentaria	
	Kallymenia sp.	Zonaria tournefortii	
	Laurencia sp.	Zonardinia typus	
	Liagora sp.		
	Lithophylum incrustans		
	Lithophylum sp.		
	Mesophyllum sp.		
	Osmundea sp.		
	Peyssonnelia sp.		
	Pterocladilla cappilacea		
	Pterosiphonia ardreana		
	Phyllophora crispa		
	Plocamium sp.		
	Rhodymenia sp.		
	Scinaia sp.		
	Spherococcus coronopifolius		
	Tricleocarpa fragilis		

# 3.2. Impact de la pollution sur les communautés macroalgales de l'infralittoral supérieur

Dans l'ensemble des 108 quadrats (27 x 4 saisons), nous avons recensé uniquement 35 taxons d'algues dont les mesures de recouvrement ont été effectuées à l'aide du logiciel PRIMER. Le test (PERMANOVA) sur la transformation en racine carrée de la composition des algues, en fonction du site de chaque échantillon (toutes saisons, tous sites), en utilisant les similarités S17 Bray Curtis a montré une différence pour tous les sites (hautement significatif), l'abondance de *Corallina caespitosa* dans tous les sites d'échantillonnage, *Cystoseira amentacia* et *Valonia utricularis* étaient abondantes seulement dans les sites non pollués (cap de Garde), *Cystoseira compressa*, *Sargassum vulgare* et *Amphiroa* sp. étaient plus abondantes dans le site non pollué et en quantités limitées dans les zones urbanisées (''site B'' la Caroube) où il y a une grande abondance de *Jania* sp., tandis que l'abondance d'*Ulva* sp. est observée dans le site fortement pollué au voisinage du port. Ces différences des abondances ont affecté la structure de la communauté (Fig. 6).



**Figure 6**. nMDS à deux dimensions. (a): vecteurs de corrélation des taxons d'algues par rapport au site; corrélation> 0,4 (Spearman). Contrainte 2D: 0,21 (b): nuage de points nMDS à deux dimensions sur l'abondance des algues dans chaque échantillon par rapport au site. 2D stress: 0,21. Chaque point représente un échantillon. Site: point gris clair = La Caroube; point gris foncé = Cap de Garde; croix noire = Port.

**Tableau 5.** Permutation multivariate analysis of variance (PERMANOVA) sur la transformation en racine carrée de la composition des algues, en fonction du site de chaque échantillon (toutes saisons, tous sites), en utilisant les similarités S17 Bray Curtis. \*\*\*: hautement significatif.

				Pseudo-		
Source	Df	SS	MS	F	P(perm)	Perms
Site	2	54701	27351	19.648	0.001***	998
Saison	3	32656	10885	7.8197	0.001***	999
Site x Saison	6	33648	5608.1	4.0287	0.001***	999
Residual	96	1.3364 E5	1392			
Total	107	2.5464E5				

**Tableau 6.** Permutation multivariate analysis of variance, entre chaque variable (PAIR-WIZE TEST) sur la transformation en racine carrée de la composition des algues, en fonction des sites d'échantillonnage, en utilisant les similarités S17 Bray Curtis. \*\*\*: hautement significatif.

Groupes	T	P(perm)	Perms
Cap de Garde - La Caroube	4.002	0.001***	999
Cap de Garde-Port	4.3192	0.001***	998
La Caroube-Port	2.774	0.001***	999

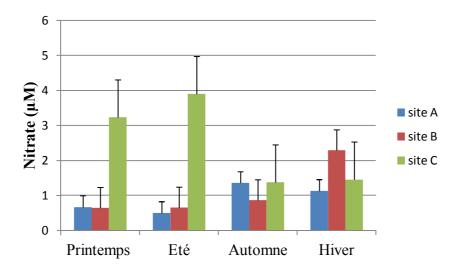
**Tableau 7.** Permutation multivariate analysis of variance, entre chaque variable (PAIR-WIZE TEST) sur la transformation de la racine carrée de la composition des algues, en fonction de la saison de tous les échantillons, en utilisant les similarités S17 Bray Curtis. \*\*\*: hautement significatif.

Groupes	T	P(perm)	Perms
Printemps, été	2.5314	0.001***	997
Printemps, automne	2.5514	0.001***	999
Printemps, hiver	2.6208	0.001***	998
Eté, automne	1.7798	0.015**	999
Eté, hiver	2.2757	0.001***	999
Automne, hiver	1.2275	0.202	999

#### 3.3. Paramètres chimiques

#### 3.3.1. Nitrates

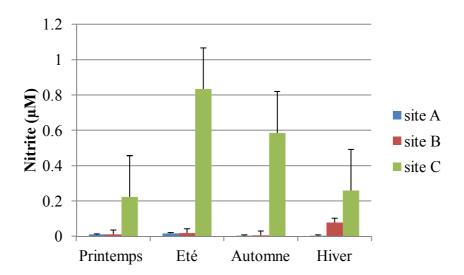
La variation des concentrations des nitrites lors de la période d'étude est représentée par la figure 7. Nous remarquons que les valeurs sont plus élevées entre l'automne et l'hiver pour les sites A et B avec un pic de 2,29  $\mu$ M. Durant les autres saisons, les concentrations de nitrites fluctuent faiblement 1  $\mu$ M.L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des nitrates des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons (p = 0,392) et les stations (p = 0,368).



**Figure 7.** Variations spatiotemporelles de la concentration des nitrates (μM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.

#### 3.3.2. Nitrites

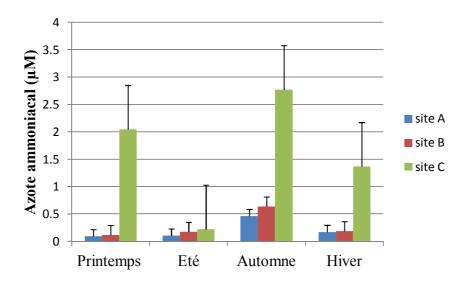
La variation de la concentration des nitrites des eaux des stations d'échantillonnage est représentée dans la figure 8. Les résultats obtenus indiquent que les concentrations sont inférieures à 1  $\mu$ M, avec une moyenne maximum 0,475  $\mu$ M pour le site C et une plus faible valeur observée dans le site A (0,009  $\mu$ M). L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des nitrites des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives entre les saisons (p = 0,392) et les stations (p = 0,368).



**Figure 8.** Variations spatio-temporelles de la concentration des nitrites (μM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.

#### 3.3.3. Azote ammoniacal

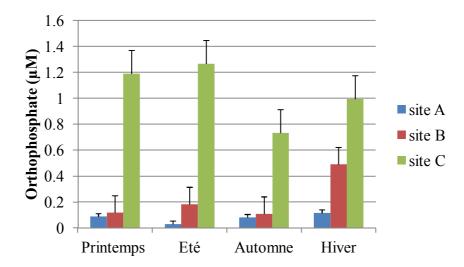
La variation de l'azote ammoniacal dans les stations d'étude est représentée dans la figure 9. Les concentrations ont été le plus souvent inférieures à  $1\mu$ M pour les sites A et B avec un maximum de 2,769 en automne au niveau du site C. L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration de l'azote ammoniacal des eaux des stations d'échantillonnage, a révélé l'absence de différences significatives pour les saisons (p = 0,392) ainsi pour les stations (p = 0,368).



**Figure 9.** Variations spatiotemporelles de la concentration de l'azote ammoniacal (μM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.

# 3.3.4. Orthophosphates

La concentration des orthophosphates dans les stations d'échantillonnage sont représentées en  $\mu M$  (Fig. 10). La concentration moyenne la plus élevée a été enregistrée dans le site C 1,04  $\mu M$ ). La plus faible concentration moyenne a été enregistrée dans le site (A) avec une valeur de 0,079 $\mu M$ . L'application du test non paramétrique de Kruskal-Wallis relatif à la comparaison de la variation de la concentration des orthophosphates dans les sites d'échantillonnage, a révélé aucune différence significative entre les saisons (p = 0,392) et les stations (p = 0,368).



**Figure 10.** Variations spatiotemporellse de la concentration des orthophosphates (μM) dans les trois stations étudiées du golfe d'Annaba entre 2014 et 2015.

Les variations saisonnières moyennes des paramètres chimiques de chaque zone sont résumées dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Valeurs saisonnières moyennes des différentes formes d'azote et de phosphore.

Sites	Saisons	Nitrates	Nitrites	Azote ammoniacal	Orthophosphates	Nt	N/P
cap de Garde	Printemps	0,666	0,0105	0,094	0,089	0,770	8,657
site A	Eté	0,499	0,017	0,106	0,031	0,622	20,064
	Automne	1,357	0,005	0,46	0,082	1,822	22,219
	Hiver	1,13	0,005	0,171	0,117	1,306	11,162
	Moyenne	0,913	0,009	0,207	0,079	1,130	14,170
La Caroube	Printemps	0,647	0,012	0,116	0,118	0,775	6,567
site B	Eté	0,653	0,019	0,173	0,183	0,845	4,617
	Automne	0,868	0,006	0,634	0,109	1,508	13,834
	Hiver	2,294	0,079	0,187	0,491	2,56	5,213
	Moyenne	1,115	0,029	0,277	0,225	1,422	6,312
Port	Printemps	3,233	0,223	2,044	1,189	5,5	4,625
site C	Eté	3,899	0,833	0,223	1,266	4,955	3,913
	Automne	1, 378	0,586	2,769	0,733	3,355	4,577
	Hiver	1,456	0,259	1,366	0,994	3,081	3,099
	Moyenne	2,862	0,475	1,600	1,045	4,222	4,038

Orfanidis en 2001 a utilisé l'indice d'évaluation écologique (EEI) pour développer l'évaluation des changements d'état après une dégradation dans les écosystèmes côtiers. L'indice d'évaluation écologique EEI est un nombre compris entre 2 et 10, indiquant l'état écologique global des eaux côtières (Tab. 9). Le EEI est peut être calculé comme suit: l'abondance absolue (%) de chaque espèce de ESG est estimée par son recouvrement.

L'abondance moyenne (%) des espèces de ESGI et de ESGII est comparée dans une matrice pour déterminer le statut écologique des PP ou des PL dans une gamme de cinq catégories allant du bon au mauvais (Orfanidis *et al.*, 2001, 2003, 2008) (Tab.9).

**Tableau 9.** Système de notation numérique pour l'évaluation de l'état écologique des eaux côtières (traduit de Orfanidis *et al.*, 2001).

Valeurs numériques des catégories écologiques	Indice d'évaluation écologique (EEI)
Elevé = 10	[≤10 - >8] = Elevé
Bon = 8	$[\le 8 - > 6] = Bon$
Modéré = 6	[≤6 - >4] = Modéré
Faible = 4	$[\le 4 - > 2] = Faible$
Mauvais = 2	[2] = Mauvais

**Tableau 10.** Liste des espèces dans la zone d'étude. Le recouvrement de chaque espèce est exprimé en% de la surface d'échantillonnage. Les espèces sont regroupées en deux groupes d'états écologiques (ESGI et ESGII).

	-		S1				S2				S3		
	Espèce -	P	Е	A	Н	P	Е	A	Н	P	Е	A	Н
	Sargassum vulgare	0	0	0	0	0	3,01	0	0	0	0	0	0
	Sargassum sp	15,94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sargassum sp. d'Algérie	0	31,77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Cystoseira compressa	32,27	7,47	9,2	1,11	50,65	3,2	0,11	0,39	0	0	0	0
	Padina pavonica	3,03	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GI	Taonia atomaria	0,78	0	0	0	2,09	0	0	0	0	0	0	0
ESGI	Cystoseira amentacea var. stricta	19,14	26,52	58,98	83,46	0	0	0	0	0	0	0	0
	Halimeda tuna	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Padina sp	0,4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Rhodymenia sp.	0	0	0	0,19	0,04	0	0	0	0	0	0	0
	Lithophyllum incrustans	0	0	0,23	0	0	0	4,46	0	0	0	0,05	0
	Somme des moyennes	71,63	65,76	68,41	84,76	52,78	6,21	4,57	0,39	0	0	0,05	0
	Corallina ceaspitosa	9,28	23,51	18,14	9,37	16,39	12,23	39,33	41,96	25,47	46,95	47,09	75,22
	Amphiroa beauvoisii	3,62	0	0	0	0,81	0,6	0	0,37	27,44	7,09	3,8	0,67
	Dictyota dichotoma	1,77	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Colpomenia sinuosa	1,41	0	0	0	0	0	0,05	0	0	0	0,11	0
	Caulerpa cylindracea	3,7	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Chondrocanthus acicularis	0,47	0,78	2,65	1,71	2,46	0,1	4,1	1,92	0,66	1,61	3,13	2,48
	Scytosiphon lomentaria	0,73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Laurencia sp.	1,85	0	0	0	5,56	0	0	0,45	0	0	0	0
	Halopteris scoparia	0,19	1,43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hypnea musciformis	2,5	0	0	0	0,63	13,78	0,14	1,71	5,71	2,33	0,07	0
	Halopteris filicina	0,41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Dictyota sp.	0,11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ESGII	Pterocladiella capilacea	0,93	0	0	0	6,67	0	0	0	9,2	27,12	13,14	0
Ξ	Hypnea spinella	1,4	0	0	0	0,13	0	0	0	0	0	0	0
	Ulva sp.	0	0	0	0	11,24	1,91	0,34	1,33	16,19	8,88	6,12	8,88
	Centroceras gasparrinii	0	0	0	0	3,02	0	0	0	4,93	0	2,26	0
	Codium fragile	0	0	0	0	0	0	0	0	11,46	0	0	0
	Cladostephus spongiosum	0	6,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Valonia utricularis	0	0	10,29	2,34	0	0	0	0	0	0	0	0
	Alsidium corallinum	0	0	0	0	0	0	7,09	0	0	0	0,15	0
	Cladophora sp.	0	0	0	0	0	0	0	0,57	0	0	1,87	0
	Pterosiphonia ardreana	0	0	0	0,92	0	0	0	22,91	0	0	0,56	0
	Ceramium tenerrium	0	0	0	0	0	0	0	0	5,95	0	0	2,27
	Jania rubens	0,27	3,71	0,47	0,87	2,35	65,13	50,97	28,34	0	5,98	18,35	12,45
	Somme des moyennes	28,64	35,62	31,55	15,21	49,26	93,75	102,02	99,56	107,01	99,96	96,65	101,97

**Tableau 11.** Indice et catégorie d'évaluation écologique des trois stations étudiées durant les 4 saisons.

		S1				S2		S3				
	P	Е	A	Н	P	Е	A	Н	P	E	A	Н
EEI	10	8	8	10	6	2	2	2	2	2	2	2
ESC	Elevé	Bon	Bon	Elevé	Modéré	Mauvais						

Dans les groupes ESGI et ESGII, 11 et 24 espèces ont été classées respectivement (Tab.10). Les espèces du groupe ESGI dominent principalement au printemps et en hiver avec également un recouvrement important dans le site S1 (cap de Garde). Les espèces du groupe ESGII dominent dans les sites S2 (La Caroube) et S3 (à proximité du port).

En utilisant la matrice présentée par Orfanidis (2001), les sites étudiés ont été classés comme suit: S1 au printemps et en hiver ESC «Elevé » (Tab. 9), en automne et en été ESC «Bon»; S2 et S3 «Mauvais» ESC (Tab. 9), sauf au printemps dans la station 2 où le ESGII est presque à 50% (Tab. 10). On peut supposer que nos résultats de EEI ne sont corrects que si l'on classe *Corallina ceaspitosa, Jania rubens* et *Amphiroa beauvoisii* dans le groupe ESG II, car ils dominent dans tous les sites. Par contre, les espèces sensibles comme *Cystoseira amentacea* ne domine que dans le site qui est éloigné de tout type de pollution. L'état écologique des masses d'eau côtières dans la zone d'étude a été évalué à l'aide de la méthode CARLIT (Ballesteros *et al.*, 2007). Celle-ci est basée sur la cartographie des caractéristiques géomorphologiques obtenues dans le champ (pente, morphologie et substrat naturel/artificiel) et certaines espèces subtidales et semi-littorales peu profondes et les communautés du rivage rocheux.

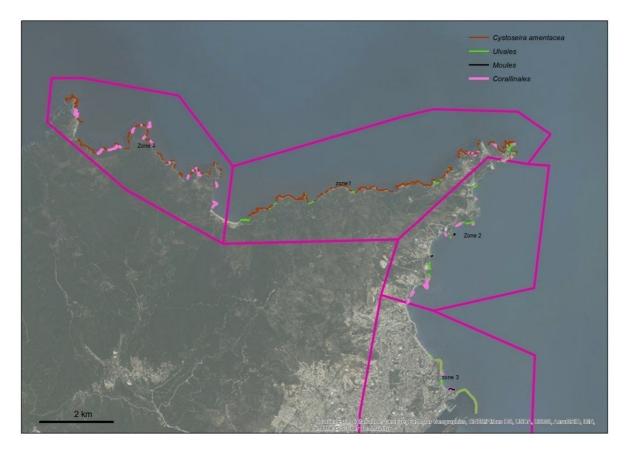


Figure 11. Partition de la cartographie en 4 zones de différents états écologiques.

L'indice de CARLIT de S1 (zones 4 et 1 sur la figure 11, le rapport de la qualité d'évaluation respectivement EQR4 = 0,98 et EQR1 = 1,06) indique respectivement "Bon" et "Elevé"

selon Ballesteros (2007). Pour la zone 2 qui est S2 (La Caroube), la valeur de EQR2 = 0,29 correspond à un état écologique''Pauvre''. Concernant la zone 3 qui est située à proximité du port, nous avons trouvé une valeur de EQR3 = 0,32 qui correspond à un état écologique''Pauvre''.

#### 4. Discussion

Dans le golfe d'Annaba, les teneurs en éléments minéraux sont très hétérogènes et s'organisent selon un gradient décroissant depuis la côte vers le large (Amri, 2018). D'énormes quantités d'orthophosphate et d'azote inorganique dissous sont libérées dans le golfe. Ces quantités sont très polluantes et auront certainement un impact sur l'environnement (Ziouch, 2014; Ayada *et al.*, 2018). Comparée à l'est du Golfe, qui est soumise à la fois à l'influence des intrants continentaux et aux eaux néritiques externes (Ounissi *et al.*, 1998; Ounissi et Frehi, 1999; Frehi *et al.*, 2004), la zone d'étude ouest est éloignée des rejets urbains et industriels continentaux qui se déversent directement ou indirectement dans le Golfe à travers les oueds Seybouse (Djabri, 1992) et Mafragh. La plupart de ces rejets sont plus confinés dans le secteur est du Golfe et rendent ainsi les eaux, peu renouvelées, hautement eutrophes (Ounissi *et al.*, 2002).

L'indice biologique des macrophytes (Haury et al., 2006) est calculé sur les scores des espèces. Les coefficients de la valence écologique et du degré de recouvrement contiennent l'abondance des espèces et la relation entre l'occurrence des espèces et les concentrations environnementales d'azote et de phosphore, la disponibilité de ces macroéléments joue un rôle important dans le contrôle de la distribution des macrophytes. Cependant, le rôle du potassium (macro-élément nutritif) est mal connu malgré sa forte concentration en tant que contaminant des eaux usées domestiques (Saidin et al., 2014) et son importance physiologique chez les macrophytes (Delmail, 2011). Donc, les nutriments ne sont pas directement toxiques pour les espèces aquatiques qui y vivent dans les écosystèmes marins, mais ils peuvent être à l'origine des nuisances indirectes telles que l'eutrophisation et l'anoxie du milieu dans les situations les plus alarmantes. L'azote ammoniacal est assez souvent rencontré dans les eaux, il peut avoir pour origine: la matière végétale des cours d'eau, la matière organique animale ou l'action humaine par les rejets urbains et industriels (Rodier et al., 1978). Les résultats obtenus indiquent une forte richesse des eaux côtières du golfe d'Annaba à la saison hivernale. Le site C qui enregistre des valeurs élevées par rapport aux autres sites, paraît être plus directement soumis aux influences des apports industriels. Le site B indique des valeurs relativement moins élevées à cause des rejets domestiques. Les plus faibles valeurs sont marquées dans le site A ce qui explique que ce site est éloigné de toutes actions anthropiques. Les nitrites constituent une étape importante dans le cycle de l'azote, il est entre l'azote ammoniacal et les nitrates, leur présence est due soit à l'oxydation bactérienne de l'azote ammoniacal soit à la réduction des nitrates. Ils ne représentent qu'un

stade intermédiaire et son facilement oxydé en nitrate, leur présence dans l'eau est donc rare et en faible quantité (Amri, 2018). Les nitrites peuvent être dangereux tant à court terme qu'à long terme, ils sont considérés comme des agents mutagènes potentiels vis-à-vis des organismes (Rejsek, 2002). Leur présence au niveau du golfe d'Annaba reste relativement faible dans l'ensemble des stations d'étude comparée aux autres sels nutritifs dosés. Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote, leur présence dans l'eau est sans risque de toxicité, mais participent à d'importants phénomènes d'eutrophisation (Lacaze et Ramade, 1993). Ils proviennent en grande partie de l'action de l'écoulement des eaux des bassins versants, la nature des zones de drainage joue un rôle essentiel dans leur présence (Rejsek, 2002). Il convient de noter que la période d'apport est plus au moins importante en hiver. L'évolution des nitrates dans les eaux du golfe d'Annaba est dominée par deux grandes variations saisonnières: de teneurs faibles en été et en automne, pour les sites A et B et plus au moins importantes en hiver et en printemps, tandis que les plus fortes valeurs sont marquées dans le site C. La présence de fortes teneurs en nitrates explique la présence d'une activité anthropique. Le phosphore inorganique dissous est représenté par les orthophosphates, ce dernier joue un rôle dans la productivité aquatique (Bouchareb, 2013). En général, ils proviennent à partir des eaux de ruissellement, qui entraînent les engrais d'origine agricole et les sous-produits domestiques, aussi le sédiment est une source de relargage imprévisible (Draredja, 2007). Dans les eaux du golfe, les orthophosphates montrent des concentrations élevées dans le site C avec un maximum de 1,189 µM en hiver. Des valeurs plus au moins élevées ont été notées dans le site B, et qui s'expliqueraient par l'importance des apports domestiques et surtout du fait qu'à cette période de l'année le brassage des eaux, sous l'action des vents qui sont parfois violents, permet un relargage important du phosphore à partir du sédiment.

La richesse spécifique (nombre d'espèces par quadrat) et le recouvrement algal présentent les principales différences par rapport au gradient d'exposition hivernale. La richesse des espèces diminue graduellement des conditions semi-exposées aux conditions très exposées dont les principaux facteurs sont la pollution et la charge sédimentaire (Diez *et al.*, 2003). Les espèces *Cystoseira amentacia* et *Valonia utricularis* sont abondantes seulement dans les sites non pollués (cap de Garde). Les communautés benthiques des macrophytes sont considérées comme de bons indicateurs biologiques de la pollution marine. Certaines espèces, telles que *Cystoseira* spp., sont très sensibles à la pollution urbaine, tandis que d'autres, comme *Ulva* spp. sont tolérantes (Bellan-Santini, 1966; Soltan *et al.*, 2001). Comme les

macrophytes benthiques marins sont principalement des organismes sessiles, ils réagissent directement à l'environnement aquatique abiotique et biotique, et représentent donc des indicateurs sensibles de ses changements (Orfanidis *et al.*, 2001). Un bon exemple est l'eutrophisation de l'eau. Il est bien documenté que des concentrations élevées d'azote et de phosphore dans la colonne d'eau n'indiquent pas nécessairement des conditions hautement eutrophes, et que de faibles concentrations n'indiquent pas nécessairement l'absence d'eutrophisation (Cloern, 2001).Les concentrations des éléments nutritifs dans la colonne d'eau sont liées à la charge en nutriments ainsi qu'à d'autres processus biologiques et chimiques. Le résultat de l'augmentation de l'eutrophisation est le remplacement des algues vivaces à croissance tardive, comme *Cystoseira* spp. par des espèces opportunistes comme *Ulva* spp. (Schramm, 1999). Les communautés de *C. amentacea* situées sur le site de référence (site A, non pollué), sont similaires aux communautés décrites dans des milieux méditerranéens non pollués (Molinier, 1960; Boudouresque, 1971; Verlaque, 1987; Ballesteros, 1988; Soltan *et al.*, 2001).

Les communautés de macro-algues sont sensibles aux perturbations anthropiques et sont donc utilisées pour évaluer l'état des écosystèmes côtiers. La sensibilité des communautés macro-algales méditerranéennes est bien documentée. Les ulvales deviennent dominantes dans les zones enrichies en éléments nutritifs car ils sont capables d'absorber et d'accumuler rapidement des nutriments, formant des habitats (Pergent, 1991), tandis que les Cystoseires ont disparu sur de vastes étendues de côtes polluées (Thibaut et al., 2005; Mangialajo *et al.*, 2008).La pollution est la cause principale de la destruction de l'habitat de C. amentacea, comparant aux observations provenant d'autres régions méditerranéennes (par exemple Arnoux et Bellan-Santini, 1972). Ce n'est qu'à proximité immédiate des installations portuaire et de fermes piscicoles (sources de pollution) que C. amentacea a été remplacé par Corallina spp. ou C. compressa (Ollivier, 1929). Depuis les années 1990, les eaux usées de la Côte d'Azur n'ont aucun impact sur les communautés de C. amentacea à cause de la mise en place des stations d'épuration et leurs localisations (Thibaut et al., 2015). L'espèce Corallina compressa prospère dans la zone sublittorale supérieure depuis la surface de la mer jusqu'à 15 m, à la fois dans des sites abrités et exposés, dans des zones vierges et modérément polluées (Thibaut et al., 2015). La dominance de C. caespitosa dans l'ensemble des sites d'échantillonnage même dans les zones polluées et son développement sous forme de gazon d'algues, car il est très tolérant et a un cycle de vie court (Gorostiaga et Diez, 1996; Diez et al., 1999). Dans la région d'Alger, la présence de Cystoseira amentacea var. stricta, ainsi que

d'autres espèces très sensibles à la pollution dans les échantillons de Cherchell (trouvé du côté négatif de l'axe), ils sont opposés à *Enteromorpha intestinalis*, *E. compressa* et *Ulva lactuca*, qui se trouvent du côté positif de l'axe (plage d'Alger). En effet, en l'absence de toute station d'épuration, les eaux usées de cette région sont soit directement déversées dans la mer, soit indirectement déversées dans les oueds côtiers (Seridi *et al.*, 2007). Le golfe d'Annaba est exposé aux pressions anthropiques et aux impacts environnementaux qui en résultent. Le golfe reçoit aussi les eaux usées urbaines qui ne subissent qu'un traitement primaire dans la station de traitement des eaux de Sidi Brahim (Boudinar, 2016), ainsi que les rejets urbains dans le site B (la caroube) et le site C (près du port) le dernier qui est exposé en plus à d'autres types de pollution comme les eaux chaudes provenant des unités de production d'engrais (Fertial) et des huiles alimentaires (Sogedia).

En utilisant la méthode de CARLIT, les résultats sont très similaires avec les tests précédemment utilisés. Celle-ci prend en compte les assemblages d'algues présents dans une bande étroite à la limite entre la zone littorale et la zone sublittorale, en ignorant les assemblages sublittoraux beaucoup plus étendus. Cependant, dans certains aspects, cet inconvénient peut être considéré comme un avantage, car les communautés littorales sont plus exposées à plusieurs polluants qui, avec le panache d'eau dessalée, coulent près de la surface de la mer (Ballesteros et al., 2007). En tant que moyen de suivi de répartition et de variation spécifique des populations de macrophytes, la méthode de CARLIT présente de nombreux avantages par rapport aux autres méthodes qui impliquent la collecte d'échantillons. Il s'agit avant tout d'une méthodologie non destructive, importante si l'on tient compte du fait que la plupart des espèces de Cystoseira (et autres algues de l'ordre des Fucales qui dominent la zone intertidale dans la plupart des zones tempérées à subtropicales) sont très sensibles aux perturbations anthropiques et ont des taux de récupération très lents (Thibaut et al., 2005). Une diminution de la diversité des macrophytes commençant de la zone de référence (zone non polluée "cap de Garde") en se dirigeant vers les zones polluées (site B "la caroube" et le site C "près du port", plus le remplacement des espèces sensibles à la pollution comme C. amentacea par les espèces opportunistes qui présentent une forte résistance à la pollution comme Corallina ceaspitosa, Amphiroa spp., Ulva spp., suggère l'existence de perturbations chimiques dues à une forte pollution à cause des rejets urbains et industriels.

# Chapitre III : Screening phytochimique et activité antibactérienne

# Chapitre III: Screening phytochimique et activité antibactérienne

# I. Screening phytochimique

#### 1. Introduction

Sur notre planète l'activité photosynthétique par les algues marines constituent notre source principale d'oxygène. La propriété physiologique des algues qui consiste à concentrer dans leurs cellules des oligo-éléments contenus dans l'eau est désormais utilisée à des fins diététiques ou en thalassothérapie. Les algues contenant un large éventail d'activités biologiques avec un potentiel pharmacologique riche (Ballesteros *et al.*, 1992). Les algues sont considérées comme une source de composés bioactifs car elles sont capables de produire une grande variété de métabolites secondaires caractérisés par un large spectre d'activités biologiques. Des composés ayant des activités cytostatiques, antivirales, anthelminthiques, antifongiques et antibactériennes ont été détectés dans les algues vertes, brunes et rouges (Lindequist et Schweder, 2001; Newman *et al.*, 2003).

Les métabolites secondaires ayant des propriétés antibactériennes chez les algues peuvent jouer le rôle de mécanismes de défense actifs contre l'épiphyte dans l'environnement marin et maintenir la capacité de régénération rapide après les dommages causés par l'environnement (Vlachos *et al.*, 1997). Des études antérieures ont révélé une variabilité intraspécifique de l'activité antibactérienne au sein d'une même espèce d'algues en raison de la variation de l'écologie, de la croissance ou de la maturité sexuelle (Pratt *et al.*, 1951; Burkholder *et al.*, 1960; Pesando, 1990) et aussi, l'influence de la zone géographique, de la saison d'échantillonnage, de la génération d'algues et des méthodes de préparation d'échantillons sur l'activité antimicrobienne a été soulignée (Salvador *et al.*, 2007).

L'exploitation industrielle des algues est essentiellement liée à l'extraction de leurs métabolites primaires et/ou secondaires, comme exemple les phycocolloïdes et polysaccharides constituant la paroi des cellules, aux propriétés texturantes. On distingue ainsi les agars et les carraghénanes, extraits des algues rouges, deux types de carraghénanes qui avaient été extraits de l'algue rouge *Chondrus crispus* et qui ont été mis en évidence depuis 1953 (Smith et Cook, 1953), des alginates, extraits des algues brunes. Les principales applications de ces phycocolloïdes sont dans le domaine de l'agro-alimentaire et également dans des domaines variés, tels que celui de la cosmétologie ou encore de l'industrie des peintures. L'activité antifongique et insecticide des flavones, flavonols et dihydroflavonols ont été explorés depuis 1962 et d'autres exemples de composés actifs ont été décrits par

plusieurs auteurs. Dans de nombreuses études, le rendement des composés phénoliques et l'extraction des flavonoïdes ont montré une forte corrélation avec la polarité du solvant utilisé, les solvants de haute polarité étant les meilleurs pour l'extraction (Lopez et al., 2011). Dans les mêmes conditions de temps et de température, le solvant et les propriétés chimiques de l'échantillon sont les deux facteurs les plus importants. Les solvants tels que le méthanol, l'éthanol, le butanol, l'acétone, le chloroforme et l'eau ont été couramment utilisés pour l'extraction des composés phénoliques des algues brunes et rouges (Yuan et Walsh, 2006; Chandini et al., 2008). Toutefois, le rendement d'extraction avec le butanol (n-BuOH) est plus élevé que d'autres extraits avec d'autres solvants, les résultats obtenus sont liés directement à la diversité quantitative et/ou qualitative des composés présents dans les extraits ainsi leurs résultats d'activité antibactérienne et antioxydante (Athamena et al., 2010). Cependant, plusieurs études ont montré la relation entre la structure des flavonoïdes et l'activité antibactérienne (Cushnie et Lamb, 2005) dont le rôle principal des flavonoïdes chez les végétaux est de leur protéger contre les agents pathogènes fongiques et bactériens (Harborne et Williams, 2000). De plus en plus, les flavonoïdes font l'objet de recherches médicales car ils possèdent de nombreuses propriétés comme l'activité oestrogénique et l'inhibition enzymatique dont le rôle des flavonoïdes est d'inhiber l'activité enzymatique par l'interaction d'enzymes avec différentes parties de la molécule de flavonoïde, par exemple : glucide, noyau phényle, anneau phénolique et benzopyrone (Havsteen, 1983), l'activité antimicrobienne (Havsteen, 1983; Harborne et Baxter, 1999), l'activité antiallergique, l'activité antioxydante (Mellouk et al., 2017), l'activité vasculaire dont les antioxydants les plus puissants se trouvent parmi les flavonoïdes et leur capacité à réduire le risque de développer une maladie cardiovasculaire, en raison de l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL). Ils ont également l'activité anti-inflammatoire (Eloff et al., 2001) par l'inhibition de l'inflammation en diminuant la libération de médiateurs inflammatoires et en stabilisant les membranes cellulaires (Berkoff, 1998). De nombreux flavonoïdes présentent une activité élevée de piégeage des radicaux, indiquant qu'ils pourraient réduire les effets néoplasiques et inflammatoires potentiels attribués à la formation de radicaux libres (Sawa et al., 1999). Les flavonoïdes sont nécessaires pour maintenir les parois capillaires et les protéger contre l'infection, comme par exemple la rutine est un flavonoïde qui aide à augmenter la force capillaire et assure une guérison rapide (Berkoff, 1998). Plusieurs chercheurs ont étudié la relation entre la structure de flavonoïde et l'activité inhibitrice contre le VIH-1 (Cushnie et Lamb, 2005). Les flavonoïdes ont également une

activité inhibitrice contre une variété d'autres virus comme le virus herpès simplex, le virus respiratoire syncytial, le poliovirus dont le mécanisme d'action antivirale comprend l'inhibition de la polymérase virale et la liaison de l'acide nucléique viral ou des protéines de la capside virale (Selway, 1986). En plus, certains flavonoïdes ont montré une activité antivirale contre le virus HSV (Balde *et al.*, 1990; Yamada, 1991; Cheng et Wong, 1996; Meyer et *al.*, 1997). De nombreux flavonoïdes ont été trouvés toxiques pour les cellules cancéreuses et sont actuellement étudiés pour cette utilisation (Lopez-Lazaro *et al.*, 2000). Plusieurs études ont détaillé l'interaction entre les flavonoïdes et les cellules de mammifères, comme par exemple les travaux de Harborne et Williams (2000) et Middleton et *al.* (2000). Une étude approfondie sur la biochimie et la signification médicale des flavonoïdes a également été réalisé par Havsteen (2002). Bien que les flavonoïdes soient consommés en grande quantité à partir des aliments, aucun niveau de toxicité n'a été signalé pour ces composés vis-à-vis des lymphocytes humains (Martini *et al.*, 2004), ce qui justifie le choix de ce composé dans notre étude.

# 2. Matériel et méthodes

# 2.1. Choix du matériel végétal

Dans notre étude expérimentale, nous avons étudié trois espèces d'algues macrophytes disponibles en quantités suffisantes durant toute l'année et surtout accessibles en plongée dans le golfe d'Annaba: il s'agit d'*Asparagopsis taxiformis* Rhodophytes (espèce invasive), *Cladostephus spongiosum* et *Halopteris scoparia* phéophytes. Ces trois espèces ont fait l'objet de nombreuses publications (McConnell et Fenical, 1977; Combaut *et al.*, 1978; Woolard *et al.*, 1979; Marshall *et al.*, 2003; Garon-Lardiere, 2004; Bansemir *et al.*, 2006; Manilal *et al.*, 2012; Genovese *et al.*, 2012; Mellouk *et al.*, 2017).

Le prélèvement des échantillons s'est effectué en plongée sous-marine dans la tranche bathymétrique comprise entre 0 et 25 m. Une fois séchées à l'air libre et à l'ombre, les espèces ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre que nous avons stocké pour une étude ultérieure.

# 2.2. Ecologie et reproduction des espèces ciblées

# 2.2.1. Asparagopsis taxiformis (Delile) Trevisan

Le cycle biologique de reproduction d'A. taxiformis est trigénétique hétéromorphe, c'est-à-dire qu'il y a succession de 3 générations de formes différentes. Les gamétophytes

mâles et femelles de cette espèce sont en effet très différents du tétrasporophyte *Falkenbergia hillebrandii* qui fut longtemps considéré comme une autre espèce. Sur les gamétophytes femelles (première génération) où nous observons des petites boules, de 1 à 2 mm de diamètre, qui sont les cystocarpes (contenant le carposporophyte = deuxième génération). Ils produiront des spores (carpospores) donnant naissance aux pompons roses connus sous le nom de *F. hillebrandii* et qui représentent le tétrasporophyte (troisième génération). *Asparagopsis taxiformis* est dioïque: son thalle est mâle ou femelle. La dissémination et la prolifération de l'algue sont facilitées par une multiplication végétative importante des gamétophytes et du tétrasporophyte. L'espèce peut se reproduire de façon sexuée avec production de gamètes mâles et femelles lors de la phase gamétophytique (haploïde), mais aussi de façon asexuée par fragmentation du stolon des gamétophytes ou de la phase tétrasporophyte (diploïde). Durant cette phase, l'espèce est appelée également *F. hillebrandii*.

Dans le golfe d'Annaba, cette espèce est présente toute l'année, fixée sur des rochers, épiphyte ou libre sur le fond, souvent présente en très grandes quantités. L'espèce a une répartition cosmopolite tropicale à tempérée chaude (Boudouresque et Verlaque, 2002). Selon ces derniers, elle a été décrite pour la première fois en Méditerranée près d'Alexandrie en Égypte, elle est abondante dans les régions tropicales et tempérées chaudes de l'Atlantique et de l'Indo-Pacifique. Cette algue tropicale et subtropicale a une répartition mondiale. En effet, elle est présente aussi en Manche et mer du Nord, aux Caraïbes, aux Antilles, à Mayotte, en Polynésie française, en Nouvelle-Calédonie, en Méditerranée et sur la façade atlantique de la France, à l'île Maurice et à Madagascar.

# • Position taxonomique

Embranchement Rhodophyta

Classe Florideophyceae

Ordre Bonnemaisoniales

Famille Bonnemaisoniaceae

Genre Asparagopsis

Espèce A. taxiformis (Delile) Trevisan

# 2.2.2. Halopteris scoparia (Linnaeus) Sauvageau

Cette algue peut se multiplier de façon végétative, par fragmentation du thalle. Le cycle biologique de la reproduction sexuée est digénétique isomorphe (deux générations distinctes mais de même aspect): le sporophyte produisant des sporocystes uniloculaires

pédicellés insérés à l'aisselle des ramules et le gamétophyte hermaphrodite (espèce monoïque) portant des spermatocystes et des oogones groupés sur un pédicelle inséré également à l'aisselle des ramules. C'est une espèce épilythe qui se fixe sur les roches par des rhizoïdes, occasionnellement épiphyte, souvent en peuplement denses, biotopes photophiles, observée de la surface jusqu'à 15m de profondeur, de mode calme, présente toute l'année (Vivier et cap de garde). Dans le monde elle est signalée en Atlantique nord-est (de la Scandinavie au Cap Vert îles Canaries, Madère, Açores) et nord-ouest (Canada), en Méditerranée et Mer noire, au Pacifique et au Japon.

# Position taxonomique

**Embranchement** Ochrophyta Classe Phaeophyceae **Ordre** Sphacelariales **Famille** Stypocaulaceae Genre

**Halopteris** 

H. scoparia (Linnaeus) Sauvageau **Espèce** 

# 2.2.3. Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh

Le cycle biologique est digénétique isomorphe (alternance de 2 phases de même aspect). Les gamétanges cylindriques et les spores ovoïdes sont situés sur les ramules verticillés. Les gamétophytes (à n chromosomes) sont monoïques mais auto-incompatibles (les gamètes mâles et femelles d'un même individu ne peuvent pas fusionner). Les gamètes mâles et femelles produits par des individus différents donnent naissance à des œufs qui sont à l'origine des sporophytes (à 2n chromosomes). Ces derniers vont produire, après réduction chromatique (méiose), des spores (à n chromosomes) qui vont donner de nouveaux gamétophytes. Toutefois, le cycle est plus compliqué car des gamètes femelles non-fécondés peuvent, par parthénogénèse, redonner des gamétophytes et des spores non réduites (apoméïotiques) peuvent redonner des sporophytes. Le thalle grandit à partir d'une cellule apicale (sphacèle), caractéristique des Sphacélariales. En section transversale, les cellules de la médulle sont ovoïdes ou presque carrées avec des parois épaisses et le cortex est constitué d'un agrégat dense de cellules plus petites. C'est une espèce caractéristique des petits fonds photophiles en mode calme qui se développe sur substrat rocheux de la zone intertidale ou dans des cuvettes sableuses jusqu'à 6 à 10 m de profondeur, très souvent à proximité immédiate de fonds sableux. Elle se rencontre parfois dans des communautés d'algues semisciaphiles et sur du gravier peu profond. Cette espèce est signalée dans le monde dans les

zones suivantes: Manche et mer du Nord, Atlantique nord-est (de la Scandinavie à l'Islande et Maroc) et nord-ouest, Atlantique Sud (Patagonie), Mer noire, Méditerranée et Pacifique (Chili, Australie et Nouvelle-Zélande).

# • Position taxonomique

Embranchement Ochrophyta

Classe Phaeophyceae

Ordre Sphacelariales

Famille Cladostephaceae

Genre Cladostephus

**Espèce** *C. spongiosum* (Hudson) C. Agardh

# 2.3. Screening chimique des métabolites secondaires

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires végétaux. Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement. Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes. Le screening chimique est une technique qui permet de déterminer les groupes chimiques contenus dans un organe végétal par des réactions physico-chimiques. Les tests préliminaires pour la détermination des groupes chimiques majeurs ont été réalisés au laboratoire de biologie végétale de l'Université Badji-Mokhtar Annaba.

# 2.3.1. Tests préliminaires sur l'infusé

Préparation de l'infusé à 10%: 10 g de drogue broyés sont placés dans 100 ml d'eau bouillante, après 15 min on procède à la filtration et à la récupération de l'infusé.

# 2.3.1.1. Recherche des tanins

Les tanins sont des composés phénoliques hydrosolubles. On distingue des tanins galliques ou éllagiques qui sont des esters de l'acide gallique et du glucose. Ce sont des composés hydrolysables et des tanins catéchiques ou tanins condensés non hydrolysables (Paris et Moyse, 1976; Bruneton, 1999). L'importance des drogues à tanins est liée à leur propriété de rendre la peau animale fraîche imputrescible et résistante à l'eau et à la chaleur. Ils ont un pouvoir antihémorragique avec des propriétés dues à l'aptitude des tanins à se

combiner aux macromolécules (et donc aux fibres de collagène de la peau). Ceci explique, par ailleurs, que les tanins précipitent les protéines, la cellulose et les pectines (Krief, 2003).

#### • Caractérisation

Nous avons pris 5ml de l'infusé auquel nous avons ajouté goutte à goutte 1ml d'une solution de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1 %. L'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence des tanins catéchiques et celle bleue noirâtre indique la présence de tanins galliques (Aworet-Samseny, 2003; Karumi *et al*, 2004; Djahra, 2014).

#### • Test de confirmation

A 30ml de l'infusé, nous avons ajouté 15ml de réactif de STIASNY (Formol à 37% + HCl à 37% 3-1v/v). Après chauffage de 30min au bain-marie, l'observation d'un précipité orange indique la présence des tanins catéchiques (Solfo, 1973).

# 2.3.1.2. Recherche des anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments naturels situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, allant du rouge orangé au bleu pourpre dans le spectre visible. Ces composés existent sous forme d'hétérosides formés par la condensation d'une molécule non glucidique (appelé aglycone) et d'oses et souvent, de groupes acyles. L'aglycone qui les caractérise est un anthocyanidol de la classe des flavonoïdes. Ils jouent un rôle important dans la protection de l'algue contre les agressions du milieu. Leur fort pouvoir colorant, leur solubilité en milieu aqueux et leur absence de toxicité font des anthocyanosides des colorants naturels susceptibles de remplacer les colorants synthétiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Enfin, leur activité anti-oxydante laisse supposer que leur apport par l'alimentation pourrait jouer un rôle bénéfique dans la santé humaine, notamment dans le domaine des risques cardiovasculaires (Azevedo *et al.*, 2010).

#### • Caractérisation

La recherche des anthocyanes repose sur le changement de la couleur de l'infusé a 10% avec le changement de pH (diviser l'infusé sur 3 tubes : témoin, pH acide et pH basique) (Djahra, 2014). Nous avons ajouté à l'infusé quelques gouttes d'HCl à 37 % et nous avons observé le changement de la couleur. Ensuite, nous avons rajouté quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH et le changement de la couleur indique la présence des anthocyanes (Solfo, 1973).

#### 2.3.1.3. Recherche des leuco-anthocyanes

Comme les flavonoïdes, les leuco-anthocyanes sont des pigments qui contiennent des principes actifs permettant de maintenir les vaisseaux sanguins en bon état (Masquelier, 1958).

#### • Caractérisation

Nous avons pris 5ml, mélangé avec 4ml d'alcool chlorhydrique (éthanol/HCl à 37 % 3v/v). Après un chauffage au bain marie à 50°C pendant quelques minutes, l'apparition d'une couleur rouge cerise indique la présence des leucoanthocyanes (Solfo, 1973).

# 2.3.2. Tests préliminaires sur le décocté

#### 2.3.2.1. Recherche des Saponosides

Ce sont des hétérosides de stérols et de triterpènes très répandus chez les végétaux. Les saponosides sont caractérisés par leurs propriétés tensions actives (abaisse la tension superficielle). Ils se dissolvent dans l'eau en formant une solution moussante (aphrogènes). (Bruneton, 2009).

#### • Caractérisation

Selon Dohou *et al.* (2003) et Békro *et al.* (2007), leur présence est déterminée quantitativement par le calcul de l'indice de mousse « degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées ».

Un échantillon de 2 g de matériel végétal sec broyé est utilisé pour préparer une décoction avec 100 ml d'eau. On porte à l'ébullition pendent 30 min et après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes à essais (1,3 cm de diamètre interne) dans lesquels on dépose un volume croissant de 1, 2,..., 10 ml, le volume final de chaque tube à essais étant ajusté a 10ml avec l'eau distillée. Chacun des tubes est agité énergiquement en position horizontale pendant 15 s. Après un repos de 15min en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en cm. Si elle est proche de 1cm dans le x<sup>e</sup> tube, alors l'indice de la mousse est calculé par la formule suivante :

$$I = \frac{\text{Hauteur de mousse (en cm)dans le x tube x 5}}{0.0x}$$

I= Indice de mousse.

x= numéro de tube possédant une mousse importante.

La présence des saponosides dans la plante est confirmée si l'indice I est supérieur à 100.

# 2.3.3. Tests préliminaires sur la poudre

#### 2.3.3.1. Recherche des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées, qui se comportent comme des bases donnant des réactions de précipitations avec certains réactifs (Bézanger-Beauquesne, 2014).

#### • Caractérisation

Cinq grammes de la plante séchée et broyée sont mélangés avec 50 ml d'HCl à 1% dans un récipient. Après une macération, nous avons filtré le mélange et additionné au filtrat quelques gouttes de réactif de Draguendorff, l'apparition d'un précipité orangé indique la présence des alcaloïdes (Debry, 1970; Bouquet, 1972; Karumi *et al.*, 2004).

#### 2.3.3. 2. Recherche des flavonoïdes

Les flavonoïdes se trouvent très souvent sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylées. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone. Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de faible poids moléculaire, largement distribués dans le règne végétal, avec plusieurs activités biologiques et notamment l'activité antimicrobienne (Hernández *et al.*, 2000). Ils se trouvent le plus souvent sous la forme d'hétérosides ou de flavonosides dont la génine est un dérivé de la phénylchromone (flavone vraie) (Fig. 12).

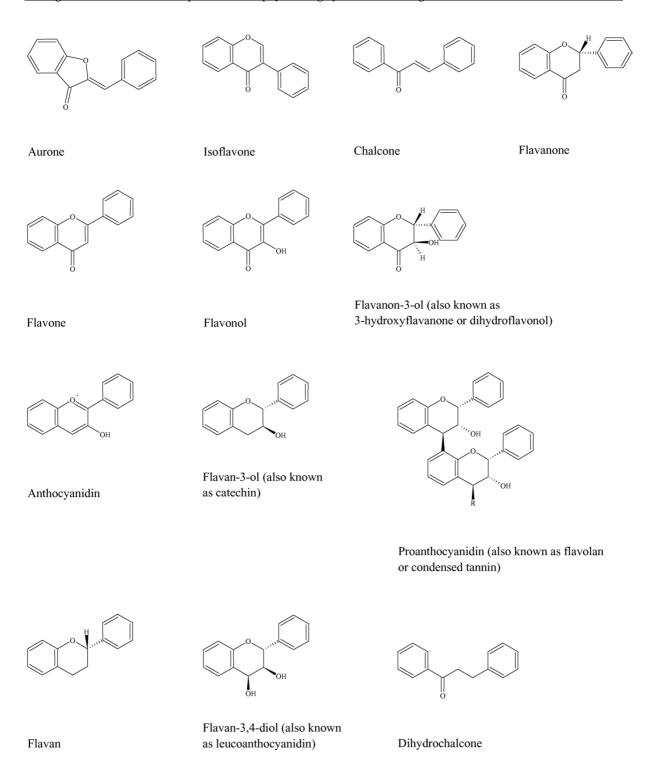


Figure 12. Structures des principales classes de flavonoïdes (Cushnie et Lamb, 2005).

#### • Caractérisation

Dix grammes de drogue pulvérisée sont macérés dans 150 ml d'HCl à 1% pendant 24 h. Après avoir filtré le mélange, nous avons procédé au test suivant : nous avons pris 10ml du filtrat, après l'avoir rendu basique par l'ajout du NH<sub>4</sub>OH, après un repos de 3 h, l'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes (Mellouk, 2007).

# 2.3.3.3. Recherche des cardinolides

Ce sont des structures de saponosides stéroïdiques. Ils se présentent sous forme glycosylée ou sous forme aglycone (génine). Les cardénolides sont nommés glycosides cardiaques d'après leur capacité à influencer le rythme cardiaque (Juncker *et al.*, 2009).

#### • Caractérisation

Un gramme de poudre sèche est macéré dans 20 ml d'eau distillée pendant 3 h. Après filtration, on prélève 10ml de filtrat qu'on mélange avec une solution de 10ml de CHCl<sub>3</sub> (chloroforme) et de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (éthanol pur). Ensuite, on évapore la phase organique dans un bain de sable à 90°C, après le précipité est dissout dans 3ml de CH<sub>3</sub>COOH glacial (acide acétique glacial), en ajoutant quelques gouttes de Chlorure ferrique FeCL<sub>3</sub> suivi de 1ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>concentré sur les parois du tube. L'apparition d'une couleur verte bleue dans la phase acide indique la présence des cardinolides.

#### 2.3.3.4. Recherche des terpènes et stérols

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou non (acyclique, monocyclique, bicyclique ou tricyclique). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isopréniques (2-methyl-1,3-butadiene) à cinq atomes de carbone (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). Ils constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules volatiles. Suivant le nombre entier d'unités isopréniques penta carbonées (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) n ramifiées, on peut classer les terpènes en: -Monoterpènes-Sesquiterpènes-Diterpènes-Sesterpènes-Triterpènes-Tetraterpènes-Polyterpènes (> C40), c'est le caoutchouc naturel (Gavira, 2013).

Les phytostérols (stérols des végétaux) et les phytostanols sont deux groupes importants de composés que l'on trouve exclusivement dans les plantes. Ils sont structurellement semblables au cholestérol, sauf dans la structure de la chaîne latérale. Ils consistent en un squelette stéroïdien avec un groupe hydroxyle fixé à l'atome C-3 de l'anneau

A et une chaîne latérale aliphatique attachée à l'atome C-17 du D-anneau. Les stérols ont une double liaisons, généralement entre C-5 et C-6 du fragment stérol, tandis que ce lien est saturé dans les phytostanols, qui sont moins abondants dans la nature que les stérols. Les stanols résistent mieux à l'oxydation et ils sont tous aussi efficaces que les stérols pour réduire l'absorption du cholestérol (Cantrill, 2008).

#### • Caractérisation

Cinq grammes de poudre sont macérés dans 20 ml d'éther de pétrole. Après avoir filtré et évaporé la phase organique dans un bain de sable à 90°C, le résidu est dissout dans 5 ml d'acide acétique en ajoutant 1 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Dans la zone de contact, entre les deux liquides il se forme un cercle marron ou violet ensuite il vire vers le gris, ce changement du cercle indique la présence des stérols et terpènes (Karumi *et al*, 2004).

## 2.3.3.5. Recherche de l'amidon

L'amidon est un glucide complexe (polyoside) composé de chaînes de molécules de D-Glucose. Il s'agit d'une molécule de réserve énergétique synthétisée par les végétaux supérieurs à partir de l'énergie solaire et un constituant essentiel de l'alimentation humaine (Malumba *et al.*, 2011).

## • Caractérisation

Un gramme de poudre de matière végétale est macéré dans 3ml d'eau distillée chaude pendant 1h. Après filtration, on ajoute à la solution aqueuse quelques gouttes de réactif d'amidon (liqueur de Fehling A et B, 1ml/1ml). L'apparition d'une couleur bleue violacée indique la présence d'amidon.

## 2.3.3.6. Dérivés anthracéniques

Ce sont des hétérosides anthracéniques ayant en commun un noyau de base anthracène.

## • Caractérisation

Dans un tube à essai, nous introduisons 1 g de poudre et 10 ml de CHCl<sub>3</sub>. Nous avons procédé à un chauffage dans bain-marie bouillant pendant 1 min, puis une filtration sur papier buvard en complétant le tout avec 10 ml de chloroforme. L'hydrolysât est préparé à partir du résidu de poudre épuisé par le chloroforme est additionné de 10 ml d'eau et 1 ml de HCl concentré. Après un chauffage au bain-marie bouillant pendant 15 min, nous avons refroidi la

solution sous un courant d'eau et puis la filtré. Le filtrat a été complété à 10 ml avec de l'eau distillée.

# Anthracéniques libres : quinones

Elles sont de nature anthracénique plus ou moins oxydée (anthrone, anthranol, anthraquinone).La coloration plus ou moins rouge de l'extrait chloroformique (1 ml) additionné de NH<sub>4</sub>OH dilué au demi indique la présence d'anthraquinones libres.

# Anthracéniques combinés

#### ➤ O-hétéroside

C'est une substance qui résulte de la condensation d'un ou de plusieurs sucres avec de la génine par un groupement d'hydroxyle, alcoolique ou phénolique.

# • Caractérisation

Nous avons effectué un mélange à volume égal de 1ml d'hydrolysat et de CHCl<sub>3</sub>. Ensuite, nous avons agité la solution. Après une décantation de la solution, nous soutirons la phase organique qui a été mise dans un tube à essai. Cette phase organique a été agitée avec 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué au demi. La présence d'anthraquinone est révélée par la coloration rouge plus ou moins intense.

# > Recherche des Hétérosides à génine réduite

Dans un tube à essai, nous avons introduit 5 ml d'hydrolysat et 3 à 4 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 10%. Le tout est porté au bain-marie bouillant pendant 5 min, puis refroidit sous courant d'eau. Nous avons agité la solution avec 5 ml de chloroforme. La phase chloroformique a été soutirée et agitée avec 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué au demi. En présence de produit d'oxydation anthranol, anthrone, la coloration rouge sera plus intense que précédemment.

## > Recherche des C-hétérosides

Ce sont des anthracénosides combinés qui correspondent à l'union d'un sucre avec une génine par une liaison C-C.

# • Caractérisation

La phase aqueuse a été additionnée à 1 ml de FeCl<sub>3</sub> à 10 % puis chauffée au bain-marie pendant 30 min. Après refroidissement sous courant d'eau, nous avons agité la solution avec 5 ml de chloroforme. La phase chloroformique soutirée a été agitée avec 1 ml de NH<sub>4</sub>OH dilué.

L'existence des C-hétérosides est confirmée par la coloration plus ou moins rouge après agitation.

#### 2.3.3.7. Coumarines

Les coumarines sont des dérivés de la benzo-pyrone ou la lactone de l'acide hydroxycinnamiques. Les propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone insaturée notamment l'ouverture de l'anneau lactonique en milieu alcalin.

## • Caractérisation

Nous avons effectué une macération de 24 h de la poudre mélangé avec de l'éther de pétrole. Cinq millilitres de cet extrait ont été évaporés à l'air libre. Le résidu a été repris par 2 ml d'eau chaude puis divisé entre deux tubes à essai. Dans un des tubes, nous avons introduit 0,5 ml de NH<sub>4</sub>OH à 25%. L'observation d'une fluorescence intense sous UV 366 nm dans le tube où il a été ajouté NH<sub>4</sub>OH indique la présence de coumarines.

# 2.4. Préparation des extraits

# 2.4.1. Récolte du matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est constitué de trois espèces différentes d'algues macrophytes récoltées dans le golfe d'Annaba en plongée sous marine, entre 5 et 25 m de profondeur entre mars et aout 2015: *Asparagopsis taxiformis*, *Halopteris scoparia* et *Cladostephus spongiosium*. Le choix de ces trois espèces est justifié par leur abondance dans la région d'étude et leur disponibilité sur toute l'année. Les échantillons ont été déjà identifiés au laboratoire dans un travail précédent lors de la réalisation d'un inventaire de macrophytes du golfe d'Annaba. Après une prospection visuelle, nous avons délimité les lieux de prélèvement. Pour chaque population, nous prélevons quelques individus dans des filets à petites mailles pour libérer de l'eau et ne pas perdre les petits individus.

## 2.4.2. Conservation

L'algue, fraîchement récoltée, est séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré puis broyée en poudre avant d'être utilisée.

## 2.4.3. Protocole de l'extraction des flavonoïdes

Afin d'extraire l'ensemble des flavonoïdes (aglycones et glycosylés), nous avons adopté la méthode de Harborne (1975).

**Etape 1:** un échantillon de 100g de poudre végétale est mis en macération dans 500ml du mélange méthanol/eau (7v/3v) pendant 24h puis filtré avec un papier filtre. Cette étape est répétée quatre fois (durant quatre jours) avec le même mélange de solvants, la quatrième macération est effectuée avec de l'eau chaude. Après chaque macération, nous plaçons le filtrat au réfrigérateur. Le filtrat total obtenu est évaporé avec un évaporateur rotatif à moins de 70°C à sec pour évaporer le méthanol et l'eau. Le résidu d'évaporation est récupéré avec l'eau chaude et laissé pendant une nuit (12 h), puis filtré avec un papier filtre n°589.

**Etape 2:** Dans une ampoule à décanter, la phase aqueuse obtenue de la filtration est mélangée avec 50 ml du n-butanol. Après agitation puis décantation, deux phases sont obtenues : une phase organique (butanolique) en haut et une autre aqueuse plus dense en bas. Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse subit un second affrontement par le même solvant (50 ml de n-butanol jusqu'à cinq fois) pour extraire un maximum de substances flavonoïdiques, jusqu'à l'éclaircissement de la couche supérieure. Enfin, la phase organique totale obtenue est évaporée à sec à 65°C avec un évaporateur rotatif (BUCHIrotavapor R-114 muni d'un bain-marie BUCHI Waterbath B-480) afin d'éliminer les solvants d'extractions, puis lyophilisés et conservés dans des flacons stériles hermétiquement fermés pour une conservation à longue durée. Le résidu d'évaporation représente donc l'extrait des flavonoïdes totaux qui sera utilisé dans cette étude.



Figure 13. Procédé d'évaporation avec un évaporateur rotatif.

# 2.4.4. Rendement de l'extraction des flavonoïdes

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein et le poids du ballon vide. L'extrait butanolique récupéré après évaporation à sec et sous pression réduite est pesé pour déterminer le poids sec résultant. Le rendement a été déterminé par rapport à 100 g de matériel végétal sec. Le résultat a été exprimé en pourcentage (p/p).

$$Rendement = \frac{poids \ de \ l'extrait}{poids \ de \ la \ poudre} X \ 100$$

# 3. Résultats

# 3.1. Rendement de l'extraction des flavonoïdes

Le poids de résidu total après l'extraction du matériel végétal sec et broyé en poudre des trois espèces d'algues macrophytes est mentionné dans le tableau 12.

**Tableau 12.** Rendement en (%) de l'extraction des flavonoïdes.

Espèces étudiées	Poids du matériel végétal (g)	Volume total obtenu avant évaporation (ml)	Rendement (g)	Rendement total (%)
Asparagopsis taxiformis	100	350	21,36	21
Cladostephus spongiosum	25	210	0,1863	0,75
Halopteris scoparia	100	428	5,1311	5



Figure 14. Résidu final de l'*Asparagopsis taxiformis* après lyophilisation.

# 3.2. Tests phytochimiques

# **3.2.1. Tanins**

La recherche des tanins par le chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>) dans les trois espèces de macrophytes a donné un résultat négatif.

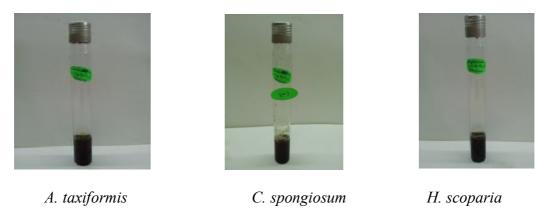


Figure 15. Test de recherche des tanins chez les trois espèces (négatif).

Après l'ajout du réactif de Stiasny pour rechercher des tanins catéchiques, le résultat était également négatif.

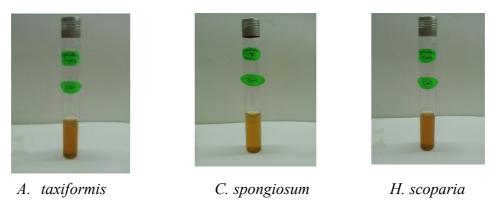
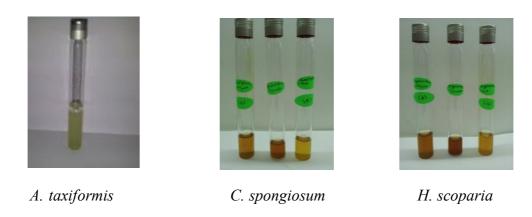


Figure 16. Test de confirmation sur la présence des tanins catéchiques (négatif).

# 3.2.2. Anthocyanes

La recherche des anthocyane dans les trois espèces a donné un résultat négatif pour *l'Asparagopsis taxiformis* tandis que le changement de couleur a été observé après l'ajout de pH à l'infusé des deux espèces *Cladostephus spongiosum* et *Halopteris scoparia*.



**Figure 17.** Test de recherche des anthocyanes chez *Cladostephus spongiosum* et *Halopterisscoparia* (positif).

# 3.2.3. Leucoanthocyanes

Le test de cette recherche a révélé l'absence des leuco-anthocyanes dans les trois échantillons.

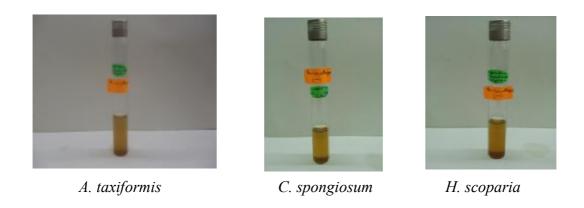


Figure 18. Test de recherche des Leuco anthocyanes (négatif).

# 3.2.4. Saponosides

Le test des Saponosides est positif dont l'indice de mousse calculé est supérieur à 100 pour les trois espèces avec une certaine différence. Les résultats sont représentés dans le tableau 13.

Tableau 13. Résultats de test sur les saponosides chez les trois espèces (positif).

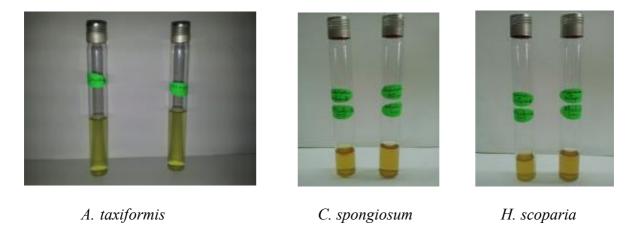
N°	Espèce			
du tube	Asparagopsis taxiformis	Cladostephus spongiosum	Halopteris scoparia	
T1	0, 2	0	0,1	
T2	0,4	0,1	0,3	
Т3	0,5	0,2	0,5	
T4	0,7	0,3	0,6	
T5	0,8	0,4	0,7	
T6	0,9	0,5	0,8	
T7	1	0,6	0,9	
T8	1,1	0,7	1	
Т9	1,3	0,8	1,3	
T10	1,4	0,9	1,4	
Indice de	700	450	700	
mousse (I)	700	430	700	



Figure 19. Persistance de la mousse pour les trois espèces (test des saponosides positif).

# 3.2.5. Alcaloïdes

Le résultat de notre test de recherche des Alcaloïdes pour les trois espèces étudiées en utilisant les deux réactifs Mayer et Dragendorff est négatif dans tous les cas.



**Figure 20.** Test des alcaloïdes pour les trois espèces avec les deux réactifs Mayer et Dragendorff (négatif).

# 3.2.6. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les composées les plus importants dans notre étude, le résultat de recherche des flavonoïdes dans les trois espèces de macrophytes étudiées est positif, où le précipité jaune apparaisse nettement dans la figure 21.

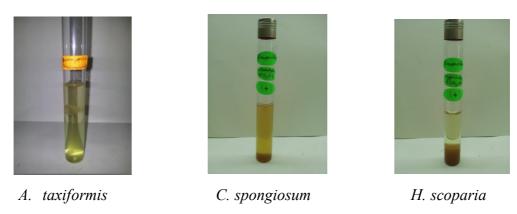


Figure 21. Présence de précipité jaune pour les trois espèces (test de flavonoïdes positif).

# 3.2.7. Cardinolides

Le résultat de la recherche des cardinolides est négatif pour les trois espèces de macrophytes étudiées.

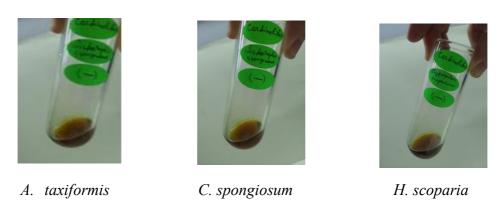


Figure 22. Résultat de recherche des Cardinolides pour les trois espèces (négatif).

# 3.2.8. Terpènes et les Stérols

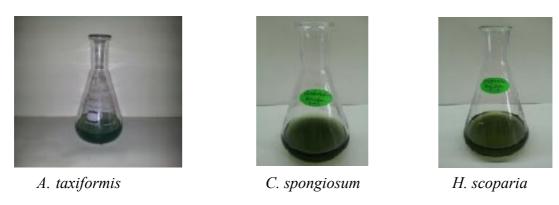
Le test de recherche des Terpène et Stérols révèle un résultat négatif pour les trois espèces de macrophytes.



Figure 23. Test des terpènes et des Stérols (négatif).

# **3.2.9.** Amidon

Le test de recherche de l'amidon a révélé un résultat positif pour l'*Asparagopsis taxiformis*, tandis il est négatif pour les deux autres macrophytes (Fig. 24).



**Figure 24.** Coloration en bleu violacé pour l'A. taxiformis (positif) et négatif pour C. spongiosum et H. scoparia.

# 3.2.10. Dérivés anthraceniques

# Anthracénique libre : quinones

Le test de recherche des quinones et négatif pour les trois espèces de macrophytes.

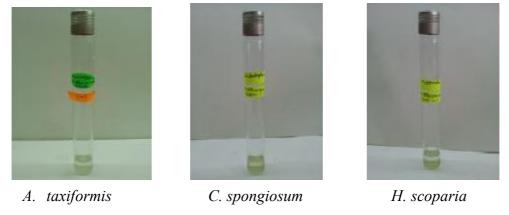
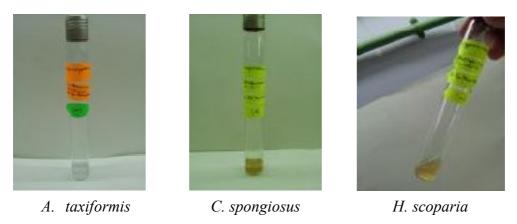


Figure 25. Test des anthracéniques libres pour les trois espèces (négatif).

# Anthracéniques combinés

## **➤** O-hétérosides

Ce test a montré un résultat positif pour *Cladostephus spongiosum* ce qui indique la présence des O-hétérosides, pour les deux autres espèces le résultat est négatif (Fig. 26).



**Figure 26.** Test positif des O-hétérosides pour *C. spongiosus* et négatif pour *A. taxiformis* et *H. scoparia*.

# > C-hétérosides

Le test de recherche des C-hétérosides est positif pour les trois espèces d'algues macrophytes étudiés (Fig. 27).

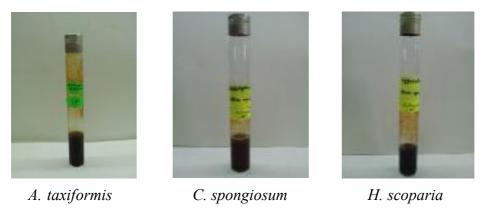


Figure 27. Présence des C-hétérosides chez les trois espèces (test positif).

Le test sur les hétérosides à génine réduite est négatif pour tous les échantillons (Fig. 28).

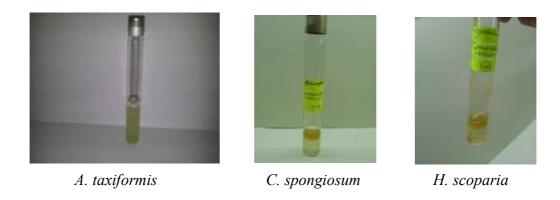


Figure 28. Test des hétérosides à génine réduite (négatif).

# > Antraquinones libres

Le test sur les Antraquinones libres est négatif pour toutes les espèces étudiées (Fig 29).

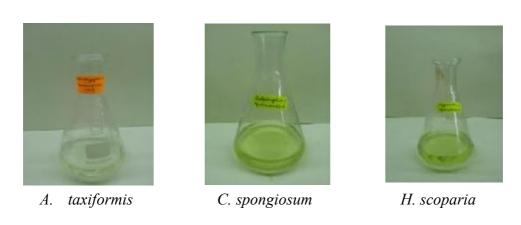


Figure 29. Test sur les antraquinones libres (négatif).

# 3.2.11. Coumarines

Le test de recherche des coumarines est négatif pour tous les échantillons (Fig. 30).



Figure 30. Test sur les couramines négatif pour les trois espèces.

Le tableau 14 résume l'ensemble des tests chimiques (16) réalisés sur les trois espèces de macrophytes sélectionnées.

**Tableau 14.** Résultats des tests chimiques pour les trois espèces de macrophytes (*Asparagopsis taxiformis*, *Cladostephus spongiosus* et *Halopteris scoparia*). (-): absence, (+): présence, (++): présence moyenne, (+++): forte présence.

		Espèces	
Tests	Asparagopsis	Cladostephus	Halopteris
	taxiformis	spongiosum	scoparia
Tanins c	(-)	(-)	(-)
Tanins g	(-)	(-)	(-)
Alcaloïdes	(-)	(-)	(-)
Terpènes et stérols	(-)	(-)	(-)
Cardinolides	(-)	(-)	(-)
Coumarines	(-)	(-)	(-)
Amidon	(++)	(-)	(-)
Flavonoïdes	(+++)	(+++)	(+++)
Quinones	(-)	(-)	(-)
Anthracéniques libres	(-)	(-)	(-)
O-hétérosides	(-)	(++)	(-)
Hétérosides à génine réduite	(-)	(-)	(-)
C-hétérosides	(+++)	(+++)	(+++)
Anthocyanes	(-)	(+)	(+)
Leuco-anthocyanes	(-)	(-)	(-)
Anthraquinones	(-)	(-)	(-)

## 4. Discussion

Dans la nature, il existe plusieurs variétés de polysaccharides pouvant être d'origine végétale, comme l'amidon, la cellulose, les pectines ou les gommes. Ils peuvent également être issus des algues comme les alginates, les carraghénanes, l'agar ou les fucanes, ou encore être d'origine animale (héparine, chondroïtine) ou microbienne (dextranes, xanthanes). Les agars et les carraghénanes proviennent des algues rouges, comme le cas de l'*Asparagopsis taxiformis* (Ruiz, 2005).

L'amidon est la forme principale de réserve carbonée chez les végétaux. Il est stocké en grande quantité sous forme de grains dans les organes de réserve dont la taille et la forme diffèrent selon les espèces végétales considérées. Cet élément, constitué d'amylose et d'amylopectine dont l'amylopectine, constituant majoritaire du grain d'amidon (70 à 80 %), est formé de chaînes glucidiques liées en α-1,4 ramifiées en α-1,6 toutes les 12 unités glucidiques environ. La masse moléculaire élevée de ce polymère (107 à 108 Da) dépend de l'origine et des conditions de culture du matériel biologique étudié (Banks *et al.*, 1975). L'amylose constitue une fraction mineure du grain d'amidon (20 à 30 %). Polymère linéaire de glucoses liés en α-1,4 ayant une masse moléculaire comprise entre 104 et 105 Da, l'amylose a la particularité de présenter une affinité pour l'iode (Ruiz, 2005). En effet, le complexe iode-amylose se colore en bleu comme ce qui a montré le test pour l'*Asparagopsis taxiformis* et qui confirme l'existence de l'iode dans cette espèce (Burreson *et al.*, 1976), contrairement à l'amylopectine qui se colore en brun acajou en présence d'iode.

Les hétérosides sont généralement solubles dans l'eau et les solutions hydroalcooliques, peu solubles dans les solvants organiques apolaires. Les O-hétérosides sont facilement hydrolysables, tandis que les C-hétérosides s'hydrolysent difficilement (sauf en présence d'un oxydant FeCl3). Les génines qui présentent la partie non glucidique (aglycone) sont le plus souvent insolubles dans l'eau et par conséquence le résultat de son test est toujours négatif.

Les saponines sont des glycosides et qui font partie des métabolites secondaires, ils peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique. Ils présentent des activités biologiques et pharmacologiques variées, principalement dans les domaines de l'immunologie, la cancérologie (Lacaille-Dubois *et al.*, 2013), la microbiologie (Bouchelta *et al.*, 2005; Vermeersch *et al.*, 2009) et anti-inflammatoire (Adão *et al.*, 2011). Les saponosides sont solubles dans l'eau chaude (solution

colloïdale) et sont caractérisés par leurs propriétés de pouvoir moussant, ce qui confirme leur abondance chez les trois espèces étudiées.

Les flavonoïdes sont connus pour leurs effets antiallergiques par l'inhibition des enzymes stimulants de la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles (Martin *et al.*, 1994). Plusieurs flavonoïdes possèdent une activité anti-inflammatoire, ils sont capables de protéger la muqueuse gastrique contre divers agents ulcérogènes (Villar *et al.*, 1987). Des propriétés antibactériennes et antivirales des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en évidence (Zheng *et al.*, 1995; Takahashi *et al.*, 2004; Cushnie et Lamb, 2011). Ces composés atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus, tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (Gonçalves *et al.*, 2001). Plusieurs études ont montré l'activité antioxydante chez les algues macrophytes dont les flavonoïdes occupent une place majoritaire chez *Halopteris scoparia* (López *et al.*, 2011) et *Asparagopsis taxiformis* (Mellouk *et al.*, 2017).

Les anthocyanes sont des pigments naturels allant du rouge au bleu. Ils appartiennent à la classe des flavonoïdes et sont utilisés tout d'abord en agro-alimentaire comme colorant naturel et sont caractérisés par leurs propriétés antioxydantes et anti vieillissement cellulaire car ils renforcent la résistance des petits vaisseaux sanguins épidermiques. Leur présence avec les flavonoïdes et les saponosides chez les espèces étudiées est prometteuse pour l'étude synergique des trois composants actifs en utilisant l'extrait méthanolique brute.

## II. Activité antibactérienne

#### 1. Introduction

Les molécules biologiques actives occupent aujourd'hui une place prépondérante dans le monde car elles sont à la base de nombreux principes actifs. En effet, aujourd'hui plus de 50% de médicaments commercialisés sont des molécules naturelles issues de diverses sources terrestres ou marines. La synthèse de celles-ci constitue donc un enjeu capital dans le domaine de la chimie pharmaceutique, avec le développement des méthodes d'extraction et de purification. Les premières molécules organiques ont pu être isolées de végétaux au début du 19<sup>ème</sup> siècle, ce furent la morphine du Pavot «*Papaver somniferum* L.», l'émétine de l'Ipéca «*Cephaelis* spp.», la caféine du caféier (Rubiaceae), la strychnine, principe actif du «*Strychnos nux- vomica* L.» la colchicine « *Colchicum autumnale* L.» (Liliaceae) et la quinine «*Cinchona* spp.» (Rubiaceae).

Les algues représentent une source de composés bioactifs naturels intéressants pour la nutrition humaine. La présence de composés antibactériens dans les algues marines est connue depuis la fin des années 1800 (Rath et Adhikary, 2007) et l'utilisation d'extraits d'algues comme antiseptique est documentée depuis 1937 (Emerson et Taft, 1945). L'intérêt pour les organismes marins en tant que source potentielle et prometteuse d'agents pharmaceutiques a augmenté au cours des dernières années (Blunt *et al.*, 2008 ; Jiao *et al.*, 2011). Il est important de préciser que plus de 150 espèces d'algues marines constituent des sources de nourriture et présentent une importance commerciale. En effet, plus de 2 milliards de dollars d'algues sont consommés annuellement par les humains, principalement dans les pays asiatiques, comme le Japon, la Chine et la Corée (Bouhlal *et al.*, 2010).

Les algues ont longtemps été reconnues comme des ressources naturelles riches en composés bioactifs grâce à leurs diverses propriétés biologiques (Mayer, 2002; Mayer *et al.*, 2009). Depuis la découverte de l'activité antimicrobienne chez de nombreuses espèces d'algues marines et l'isolement de certains composés actifs, les algues marines sont devenues des sources potentielles de substances antibiotiques (Fenical et Paul, 1984; Moreau *et al.*, 1984; Gonzalez *et al.*, 2001; Salvador *et al.*, 2007; Mayer *et al.*, 2009). Les substances qui suscitent actuellement le plus d'intérêt de la part des laboratoires pharmaceutiques pour leurs intérêts dans le domaine de la recherche médicale sont les substances antivirales et antisalissures. D'après Bouhlal *et al.* (2010), seize espèces de Rhodophytes marins des côtes du Maroc ont été testées pour la présence de composés inhibiteurs contre le virus Herpès simplex type 1 (HSV-1). Ces résultats confirment que les algues marines du Maroc peuvent

être une source riche en composés antiviraux. Certaines études portant sur l'activité antibactérienne des algues marines ont montré des variations dans la production de composés antimicrobiens. Chaque taxon possède sa propre production saisonnière de composés antibiotiques (Pesando, 1990; Padmakumar et Ayyakkannu, 1997; Tüney *et al.*, 2006), généralement la teneur en antibiotique peut varier selon la période de croissance active des thalles où le rendement peut varier selon les différentes parties du thalle, les stades de reproduction (Burkholder et Burkholder, 1960; Moreau *et al.*, 1984; Hornsey et Hide, 1985) et la localisation géographiques (Vidyavathi et Sridhar, 1991).

De nombreux composés chimiques des organismes marins y compris ceux d'origine algale ayant diverses activités biologiques ont été isolés et valorisés dans le domaine pharmacologique (Tüney et al., 2006), comme c'est le cas de certaines algues rouges renfermant des composés aux effets biologiques puissants (Fenical, 1975, 1982). De nombreux produits naturels, y compris des composés halogénés, tels que les haloformes, les méthanes, les cétones, les acétates et les acrylates, ont été décrits dans le genre Asparagopsis (McConnell et Fenical, 1977; Woolard et al., 1979). La famille Bonnemaisoniaceae, à laquelle appartient le genre Asparagopsis, forme des cellules spécialisées (Wolk, 1968; Young, 1977; Womersley, 1998), généralement appelées «vésicules» ou «cellules glandulaires» (Paul et al., 2006). L'arôme piquant de ces algues est dû à une huile essentielle composée principalement de bromoforme (Marshall et al., 2003) avec de plus petites quantités d'autres bromes, chlore et de l'iode contenant méthane, éthane, éthanol, acétaldéhydes, acétones, 2-acétoxypropanes, propènes, époxypropanes, acroléines et les buténones (Burreson et al., 1976). L'algue est d'ailleurs évitée par de nombreux herbivores étant donné qu'elle produit des métabolites secondaires toxiques. En général, les espèces du genre Asparagopsis possèdent de fortes propriétés antifongiques et antibactériennes (Bansemir et al., 2006; Salvador et al., 2007; Genovese et al., 2009; Jiao et al., 2011). Les maladies bactériennes sont préoccupantes en aquaculture, principalement parce qu'elles sont à l'origine de pertes sévères de production. Plusieurs espèces de Vibrio et d'Aeromonas, qui sont des bactéries communes dans les milieux d'eau douce et marins, ont été signalées comme pathogènes pour les poissons et les crustacés (Paillard et al., 2004), bien que d'autres espèces d'Aeromonas sont des pathogènes opportunistes ou se trouvent dans des relations symbiotiques avec des hôtes animaux (Romalde, 2002). L'extrait brut de l'algue rouge, Asparagopsis sp. a été évalué pour l'activité antibactérienne contre les pathogènes du Vibrio de la crevette (Manilal et al., 2012).

Bien que diverses études aient porté sur l'activité antimicrobienne des algues, peu d'études ont été menées sur les bactéries pathogènes affectant les poissons et les mollusques (González del Val et al., 2001; Liao et al., 2003; Bansemir et al., 2006). Genovese et al. (2012) ont étudié un échantillon d'Asparagopsis taxiformis collecté dans le détroit de Messine en Italie en vue d'évaluer: (i) l'activité des extraits d'A. taxiformis contre les pathogènes des poissons marins d'élevage, et (ii) la cytotoxicité des extraits sur des cellules isolées des glandes digestives de la moule méditerranéenne Mytilus galloprovincialis, pour se concentrer après sur leur utilisation potentielle en aquaculture. L'efficacité des produits naturels provenant des algues marines contre divers agents pathogènes bactériens des crevettes a été démontrée dans des études antérieures (Kanjana et al., 2011). La teneur en antibiotiques des algues peut varier en fonction de nombreux facteurs écologiques et biogéographiques (Moreau et al., 1984; Vidyavathi et Sridhar, 1991). La bioactivité des algues varie selon l'échelle géographique et la saison, en fonction de la variation de la teneur en métabolites actifs et les conditions physiologiques. Les Bonnemaisoniales sont les taxons les plus actifs et le pic de bioactivité était lié à la période de reproduction ou de la croissance (Salvador et al., 2007). Ils ont rapporté que l'activité antimicrobienne la plus élevée observée pour les populations méditerranéennes se située en automne et au printemps, et que la bioactivité de chaque espèce vis-à-vis de chaque microorganisme variait selon leur localisation géographique, les populations méditerranéennes d'Asparagopsis armata étant plus actives que celles des côtes Atlantiques. Il importe de préciser que l'activité antimicrobienne du genre Asparagopsis a déjà fait l'objet de travaux (Burreson et al., 1975; Bansemir et al., 2006; Salvador et al., 2007; Genovese et al., 2009).

Des recherches en Tunisie ont montré que *Padina pavonica* est riche et pourrait être utilisé comme engrais naturel et serait utilisé dans le développement des engrais biologiques afin de réduire la dépendance des engrais chimiques dans la production agricole. De plus, les extraits ont de forte capacité antifongique et antibactérienne contre les agents pathogènes humains Gram<sup>+</sup> et Gram<sup>-</sup> (Omezzine *et al.*, 2009; Ismail-Ben Ali *et al.*, 2010). D'autre part, l'algue brune *Sargassum muticum*, introduite en sud de Bretagne a été étudiée de manière approfondie et comme elle a montré une défense chimique contre les brouteurs et la colonisation bactérienne (Plouguerné *et al.*, 2006), ce qui a attiré l'attention des chercheurs pour étudier son activité antifouling. L'abondance de l'acide palmitique chez cette algue a montré une activité antibactérienne ainsi l'inhibition de la croissance de la diatomée *Cylindrotheca closterium* et la germination des spores des ulves. Aucune cytotoxicité n'a été

remarquée, ce qui est prometteur dans le cadre du développement d'une peinture antisalissure et sans toucher à l'environnement (Bazes *et al.*, 2009).

Ce chapitre a pour objectif principal de fournir pour la première fois des données essentielles sur l'activité antibactérienne sur le compartiment macroalgal des côtes est algériennes.

## 2. Matériel et méthodes

#### 2.1. Présentation des souches bactériennes

Les germes utilisés sont des souches de référence ATCC, et constituent d'excellents modèles pour la recherche de l'effet antibactérien des substances naturelles ou de synthèses. Ces souches sont conservées sur une gélose nutritive inclinée à - 4°C:

•	Escherichia coli	ATCC 25922 Gram
•	Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853 Gram <sup>+</sup>
•	Staphylococcus aureus	ATCC 25923 Gram
•	Enterococcus faecalis	ATCC 29212 Gram <sup>+</sup>
•	Klebsiella pneumoniae	ATCC 700603 Gram

# 2.2. Description des souches bactériennes

## 2.2.1. Escherichia coli

Escherichia coli (colibacille) est une bactérie, organisme procaryote appartenant à la famille des Entérobactéries. C'est un bacille Gram- qui possède un génome à ADN avec un double brin circulaire de 4,6 millions de paires de bases, qui est entièrement séquencé. Elle se réplique très rapidement à 37°C, toutes les 20 minutes, ce qui permet de multiplier facilement de l'ADN ou des protéines d'intérêt. C'est une bactérie communément trouvée dans les intestins de mammifères, humains compris. Il en existe différentes formes dont certaines sont pathogènes, provoquant des infections intestinales, infections urinaires ou génitales.

## 2.2.2. Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram de la famille des Pseudomonadaceae. Aérobie stricte (ne pouvant vivre et se multiplier qu'en présence d'oxygène), est également connu sous le nom de bacille pyocyanique. Elle est présente partout dans la nature, et en particulier dans les milieux humides et chauds. Habituellement, cette bactérie est peu

agressive envers l'homme, mais elle peut devenir pathogène dans certaines circonstances (lors d'un affaiblissement des défenses de l'organisme).

# 2.2.3. Staphylococcus aureus

Le staphylocoque doré *Staphylococcus aureus* est une bactérie Gram<sup>+</sup> pathogène pour l'homme qui ne provoque pas toujours d'infections. Appartenant au genre des *Staphylococcus*, le staphylocoque doré peut engendrer des infections cutanées ou des muqueuses pouvant mener à des situations de septicémie. Elle est aussi responsable d'infections nosocomiales, d'intoxications alimentaires et sa résistance aux antibiotiques devient parfois un problème sérieux lors du traitement des patients.

# 2.2.4. Enterococcus faecalis

Enterococcus faecalis est une bactérie qui appartient au genre Enterococcus (entérocoques). Elle colonise l'appareil digestif et peut provoquer des infections potentiellement mortelles. Elle est particulièrement présente dans les hôpitaux, entraînant des maladies nosocomiales. Elle est par exemple responsable d'infections de la vessie, de la prostate et d'endocardites. Les infections ne sont pas simples à traiter car la bactérie présente une grande résistance aux antibiotiques, communément utilisés (tels que les aminoglycosides, les céphalosporines, la clindamycine, les pénicillines). L'exposition à ces molécules constitue un facteur de risque pour la colonisation et l'infection par cette bactérie.

# 2.2.5. Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae est un bacille Gram-, immobile, non sporulé, anaérobie facultatif et appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Après 24 heures d'incubation à 37°C sur des milieux non sélectifs et des milieux sélectifs lactosés, *K. pneumoniae* est présente dans l'ensemble des territoires anatomiques du corps humain, le plus souvent dans les voies respiratoires et urinaires. Il s'agit d'une espèce pathogène opportuniste, fréquemment rencontrée dans la nature (eaux de surface, sol, bois et végétaux).

## 2.3. Milieux de culture

En fonction des différents protocoles expérimentaux et de la disponibilité des souches étudiées, on utilise généralement les milieux de culture suivants: gélose nutritive (GN), gélose

Chapman, gélose Muller Hinton (MH) et bouillon Muller Hinton. La composition des milieux de culture précités est résumée dans le tableau 15.

**Tableau 15.** Composition des différents milieux de culture (Joffin et Leyral, 2006).

Milieux de culture	Composition (g/l)
Gélose Chapman	Extraits de viande (1 g) et de levure (3 g), tryptone (5 g),
	peptone bactériologique (10 g), chlorure de sodium (70,
	mannitol (110 g), rouge de phénol (0,025 g), agar (15 g), pH =
	7,4.
Gélose nutritive	Peptone (5 g), extraits de viande (1 g) et de levure (2 g),
	chlorure de sodium (5 g), agar (15 g), pH: 7,4.
Gélose Mueller Hinton	Infusion de viande de bœuf (300 cm³), amidon de maïs (1,5 g),
	agar (17 g), pH : 7,4.

# 2.4. Préparation des solutions

Pour chaque extraits secs préparés auparavant, on récupère 200 mg dans 1ml du DMSO (Diméthylsulfoxyde) à 1% pour obtenir une solution de 200 mg/ ml.

# 2.5 Technique de diffusion sur milieu solide

# 2.5.1. Préparation de la gélose

La gélose est fondue dans un bain-marie puis écoulée sur des boites Pétri d'environ 4 mm d'épaisseur. Après solidification, les boites sont laissées quelques minutes pour assurer leur séchage.

## 2.5.2. Mode opératoire

L'activité antibactérienne des différents extraits est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par Bauer et *al.* (1966) et reprise par Barry et *al.* (1985).

# • Préparation de l'Inoculum

- A partir d'une culture pure de 18h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger la pipette pasteur dans un tube stérile contenant5ml d'eau physiologique stérile (NaCl à 0,9%).

- Bien homogénéiser la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex, elle doit être à 10<sup>8</sup> bactérie/ml (Unité Formant Colonie par millilitre) et son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland et qui correspond à une D.O (densité optique) de 0,08 à 0,10 lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm.
- Diluer la suspension bactérienne à 10<sup>6</sup> bactérie/ml (pour les staphylocoques la dilution est de l'ordre 1/10).

# • Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et laisser s'imbiber.
- L'essorer en pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Etaler l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées, afin d'assurer une distribution homogène de l'inoculum.

  Répéter l'opération deux fois en tournant la boite pétrie 60° à chaque fois sans oublier.
  - Répéter l'opération deux fois, en tournant la boite pétrie 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finalisé l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose afin d'assurer une distribution homogène de l'inoculum.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boites de pétri, il faut penser à rechanger l'écouvillon à chaque fois.
- Laisser sécher les boites 15 à 20 minutes.

## • Application des disques

- Il est déconseillé de placer plus de 6 disques sur une boite de 90 mm de diamètre, les disques doivent être espacés de 24mm centre à centre (Henri Alexandre et Paulette Van Gansen, 2005).
- Dans la première boite, commencer par l'application d'un disque témoin chargé du diluant (DMSO) à 1% avec trois concentrations 3, 6 et 9mg/ml correspondantes respectivement à 15, 30 et 45 μl pour assurer l'effet négatif du diluant sur la bactérie étudiée.
- Dans cette expérimentation, nous avons utilisé trois disques par boite, le premier est un disque chargé de 15 μl (3 mg/ml), tandis que le deuxième est chargé de 30 μl (6 mg/ml) et le troisième est chargé de 45 μl (9 mg/ml) de notre solution mère de l'extrait végétal.

- Les disques ont été appliqués à l'aide d'un distributeur ou d'une pince bactériologique stérile, avec laquelle chaque disque chargé a été pressé à la surface de la gélose pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque, il ne doit pas être déplacé.
- Les boites Pétri sont d'abord laissées pendant 2 h à 4°C pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve (Adesokan *et al.*, 2007).

#### Incubation

- Incuber les boites à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

#### • Lecture

- L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque pour chaque souche (Doughari *et al.*, 2007).
- Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré avec précision en millimètre, à l'extérieur de la boite fermée.
- Selon le diamètre d'inhibition, les bactéries sont enfin classées dans l'une des catégories suivantes: résistante, sensibilité limitée, sensibilité moyenne, très sensible, (Tab. 16).

**Tableau 16.** Classement des bactéries selon le diamètre d'inhibition (Duraffourd, 1987).

Diamètre	< 8 mm	8 à 14 mm	14 à 20 mm	> 20
d'inhibition:			14 a 20 mm	> 20 mm
Sensibilité du	Dágigtanta	Sensibilité	Sensibilité	Très sonsible
germe :	Résistante :		moyenne	Très sensible
Degré	( )	(4)	(++)	(+++)
d'activité :	(-)	(+)	(17)	(1 17)

## 2.5.3. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu liquide

La détermination de la CMI a été réalisée selon la méthode décrite par Bolou *et al.* (2010). Les différentes dilutions sont préparées à partir de solutions mères en distribuant les quantités décroissantes des produits à tester dans 18 tubes.

Pour chaque extrait, on prépare par la méthode de double dilution, une gamme de concentrations stériles, allant de 200à 1,25 mg/ml avec de DMSO à 1%. On prépare également pour chaque souche bactérienne, un inoculum dont la turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland (soit 10<sup>8</sup> UFC/ml) et ramené à 10<sup>6</sup> UFC/ml dans du bouillon Mueller-Hinton deux fois concentré. Ensuite, on ajoute dans des tubes à hémolyse, 1 ml de chaque concentration et 1 ml d'inoculum bactérien. La gamme de concentration de chaque extrait subit alors une

dilution de moitié et s'étale comme suit:100; 80; 60; 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25 et 0,625 mg/ml. On prépare également un tube témoin de croissance contenant 1 ml de DMSO à 1% et 1 ml d'inoculum, puis un tube témoin de stérilité contenant 1 ml de DMSO à 1% et 1 ml de bouillon Mueller-Hinton deux fois concentré stérile. Les tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 h. Après l'incubation, on examine la croissance bactérienne, dans chaque tube, qui se traduit par une turbidité. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée sera la plus petite des concentrations montrant aucune croissance visible de germe (selon la turbidité de la solution dans les 10 tubes en comparaison avec les deux tubes, témoins + et témoin -).

# 2.5.4. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La détermination de la CMB a été réalisée selon la méthode décrite par Bolou *et al.* (2010). Pour déterminer la CMB, on réalise 24h plus tôt, un témoin de bactéricide en ensemençant en strie sur une gélose en boite de Pétri, les dilutions 10°, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup> et 10<sup>-4</sup> de l'inoculum de départ, correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants. Après la lecture de la CMI, on effectue des repiquages en strie, sur une gélose neuve, des tubes sans croissance visible. Après incubation des repiquages à 37°C et 24 h, on compare les stries au témoin de bactéricide. La CMB sera la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale à 0,01% de survivants.

#### 3. Résultats

# 3.1. Antibiogramme

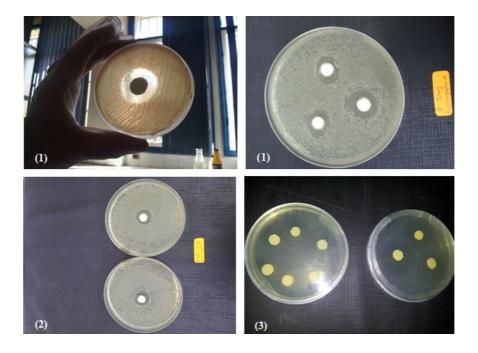
Nous avons étudié *in vitro* l'activité antibactérienne de 3 extraits de 3 espèces de macrophytes benthiques (*Asparagopsis taxiformis*, *Cladostephus spongiosum* et *Halopteris scoparia*). Pour l'étude de la méthode de diffusion en milieu gélosé, l'activité antibactérienne de nos extraits est déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition au tour de chaque disque. Les résultats résumés dans le tableau 17 indiquent que chaque espèce bactérienne agit différemment à l'effet de chaque extrait. Cette différence est confirmée par l'analyse de la variance (AV1), où des différences significatives ( $p \le 0.05$ ) ont été remarquées entre les 3 extraits pour chaque souche bactérienne, ainsi dans chaque extrait pour différentes concentrations (3 mg, 6 mg et 9 mg).

Pour l'extrait de l'*A. taxiformis* (S1) par rapport aux deux bactéries (*E. coli*, *S. aureus*). Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0,05, on rejette l'hypothèse nulle Ho et on retient l'hypothèse alternative Ha. Donc, il existe des différences significatives que *A. taxiformis* a un effet sur les bactéries Gram<sup>-</sup> et sur *E. coli* avec des concentrations considérables. Le diamètre maximum d'inhibition est remarqué chez *S. aureus* (30,66 ± 0,44) et un effet moyen avec toutes les concentrations de l'extrait (S1) sur les bactéries Gram<sup>+</sup> *P. aeruginosa* et *E. faecalis*. Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on accepte l'hypothèse nulle Ho. Pour l'extrait de *C. spongiosum* (S2) qui a un effet moyen sur *E. coli*, *E. faecalis* et *P. aeruginosa* et que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on accepte l'hypothèse nulle Ho. Donc, il n'existe aucune différence significative que toutes les concentrations ont presque le même effet, sauf pour *S. aureus* où la concentration minimale provoque un effet sur cette bactérie, puis il diminue avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Cependant, le plus faible résultat est celui de l'extrait (S3) H. scoparia à l'exception son effet sur E. faecalis. Il existe des différences significatives que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0,05, on doit rejeter l'hypothèse nulle Ho, et retenir l'hypothèse alternative Ha. Cet effet augmente avec la concentration de l'extrait pour atteindre un maximum de  $18,33 \pm 1,11$ . Ainsi, son effet moyen sur E. coli atteint un diamètre maximum de 11mm sous l'effet d'une concentration de 9 mg/ml de l'extrait.

**Tableau 17.** Diamètres moyens (M  $\pm$  ET) des zones d'inhibition des souches de référence testées par les 3 extraits. **S1:** Asparagopsis taxiformis, **S2:** Cladostephus spongiosum, **S3:** Halopteris scoparia.

Souches de référence	Extraits	Témoin	3 mg	6 mg	9 mg
Escherichia coli	S1 S2	00,00 00,00	00,00 10,33±0,44	11,33±0,44 13,33±0,44	19,66±0,44 14,33±0,44
ATCC 25922 Gram	S3	00,00	$10,66\pm0,44$	$10,66\pm0,44$	$11,00\pm0,00$
	S1	00,00	11,66±0,88	13,33±0,44	14,33±0,44
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 Gram <sup>+</sup>	S2 S3	$00,00 \\ 00,00$	11,66±0,88 0,00	$13,66\pm0,44$ $0,00$	$14,33\pm0,44$ 0,00
Staphylococcus aureus ATCC 25923 Gram <sup>-</sup>	S1 S2 S3	00,00 00,00 00,00	26,00±1,33 11,00±0,00 0,00	26,66±3,77 7,33±4,88 0,00	30,66±0,44 9,33±6,22 2,33±3,11
Enterococcus faecalis ATCC 29212 Gram <sup>+</sup>	S1 S2 S3	00,00 00,00 00,00	14,66±0,44 12,33±0,88 14,00±0,00	17,00±0,66 12,66±0,44 17,33±0,44	13,00±1,33 14,00±0,66 18,33±1,11
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603 Gram <sup>-</sup>	S1 S2 S3	00,00 00,00 00,00	12,33±1,11 12,33±0,44 10,33±0,44	10,66±0,44 0,00 10,33±0,44	21,33±2,44 15,33±1,11 0,00



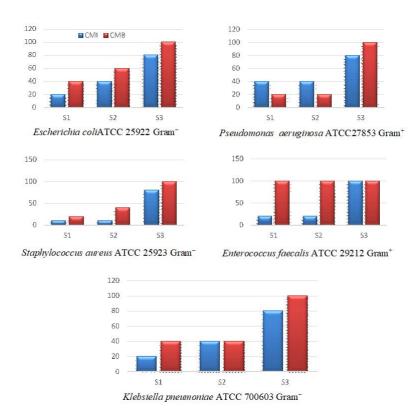
**Figure 31.** Effet antibactérien de l'extrait butanolique de l'*Asparagopsis taxiformis* sur *Escherichia coli* ATCC 25922 Gram<sup>-</sup> (1), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Gram<sup>+</sup>, (2) et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Gram<sup>-</sup> (3).

## 3.2. Détermination de la CMI et la CMB des extraits testés

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits étudiés est représentée dans le tableau 18 et la figure 31.

**Tableau 18.** Résultats de la CMI et la CMB.

Souches de référence	Extraits	CMI	CMB
Escherichia coli	S1	20	40
ATCC 25922 Gram	S2	40	60
ATCC 23922 Grain	S3	80	100
Da audaman aa aamain aa	S1	40	20
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 Gram <sup>+</sup>	S2	40	>20
ATCC 2/833 Grain	S3	>80	>100
Charalanda a a a a a a a a a a a a a a a a a a	S1	10	20
Staphylococcus aureus ATCC 25923 Gram	S2	10	40
ATCC 25925 Gram	S3	80	>100
F., (,,,,,,);;;	<b>S</b> 1	20	>100
Enterococcus faecalis ATCC 29212 Gram <sup>+</sup>	S2	20	100
ATCC 29212 Gram	S3	100	100
VI.L.: II	<b>S</b> 1	20	40
Klebsiella pneumoniae	S2	40	40
ATCC 700603 Gram	S3	80	>100



**Figure 32.** Détermination de la CMI et la CMB pour les trois extraits (S1: *Asparagopsis taxiformis*, S2: *Cladostephus spongiosus* et S3: *Halopteris scoparia*) sur les 5 bactéries.

Nous remarquons que l'effet antibactérien de l'extrait S1 est le plus efficace pour toutes les bactéries et avec des concentrations plus au moins faibles de l'extrait entre 10 et 20 mg/ml, sauf avec *P. aeruginosa* où elle est à 40 mg/ml. L'effet de cet extrait (S1) est bactéricide avec toutes les bactéries à des concentrations comprises entre 20 et 40 mg/ml, à l'exception avec *E. faecalis* où il n'est bactéricide qu'à des concentrations supérieures à 100 mg/ml. Pour l'extrait de l'espèce *C. spongiosum* (S2), il a un effet sur toutes les bactéries avec des concentrations comprises entre 10 et 40 mg/ml et un effet bactéricide sur toutes les bactéries à des concentrations comprise entre 20 et 60 mg/ml qu'avec *E. faecalis* est à 100 mg/ml. L'activité bactéricide la plus faible est notée pour l'extrait (S3) de l'espèce *H. scoparia* sur toutes les bactéries avec des concentrations oscillant entre 80 et 100 mg/ml. Cependant, pour la CMB de cet extrait (S3) il est de 100 mg/ml et elle est supérieure à 100 mg/ml pour les trois bactéries *P. aeruginosa, S. aureus* et *K. pneumoniae*.

## 4. Discussion

Les zones d'inhibition observées in vitro et utilisées comme indicatives de l'activité antibactérienne, peuvent varier en fonction de la teneur en métabolites actifs et de la variabilité intrinsèque des souches pathogènes testées. La différence de sensibilité des 5 souches bactériennes peut être attribuée à la nature chimique des extraits testés ainsi que la nature des souches bactériennes. L'extrait butanolique riche en flavonoïdes peut présenter des zones d'inhibitions considérables sur les 5 souches où le maximum de 30,66 ± 0,44 mm est noté pour l'extrait S1 sur *S. aureus*. Cet extrait est le plus actif puisqu'il peut présenter des zones d'inhibition considérable sur les 5 souches bactériennes avec un maximum de concentration minimale inhibitrice de 40 mg/ml, mais il n'est pas bactéricide pour *E. faecalis*, ce qui signifie qu'il inhibe sa prolifération et sa croissance sans les éliminer complètement. De ce fait, nous pouvons supposer que les flavonoïdes d'*A. taxiformis* possèdent un effet antibactérien considérable.

Une activité contre différentes bactéries à Gram<sup>+</sup> a été observée à partir des extraits d'A. taxiformis récoltée dans le détroit de Messine en mai (González del Val et al., 2001). L'effet inhibiteur des extraits d'A. taxiformis contre les souches de Vibrio isolées des crevettes (Vibrio alginolyticus, V. parahaemolyticus et V. vulnicius) a été déjà rapporté (Manilal et al., 2009). Bien que l'on ait déjà décrit l'activité d'A. taxiformis contre plusieurs espèces de bactéries pathogènes des poissons et des crevettes, elle a aussi une activité contre différentes bactéries à Gram-, y compris P. damselae, considérée comme résistante à la plupart des antibiotiques et V. cholerae, V. parahaemolyticus et V. vulnificus, qui ont été reconnus comme bactéries responsables de maladies humaines. L'extrait S2 est bactéricide à des concentrations comprises entre 40 et 60 mg/ml, à l'exception sur la bactérie E. faecalis où il est bactéricide à 100 mg/ml. L'extrait butanolique (S3) a un effet très faible sur les 5 souches de référence. Cela peut être dû à la nature de l'extrait riche en flavonoïdes glycosidiques. Une étude a déjà montré que H. scoparia en tant que source naturelle de composés antioxydants bien connus tels que l'acide gallique, la catéchine et l'épicatéchine (Lopez et al., 2011). Selon Ballesteros (1992), le spectre de l'activité antibactérienne pour l'Asparagopsis au stade tétrasporophyte est le plus large dans l'activité antimicrobienne étudiée. Par contre, H. scoparia montre une forte activité antifongique tandis qu'elle est moyenne pour C. hirsitus. La bactérie E. faecalis à Gram<sup>+</sup> montre une forte résistance vis-à-vis des 3 extraits d'algues macrophytes. Cette bactérie a montré auparavant une résistance contre 6 espèces d'algues collectées sur les côtes tunisiennes (Mhadhebia et al., 2012). Les mécanismes antimicrobiens associés aux

flavonoïdes peuvent expliquer la puissance antimicrobienne de ces composés dont l'activité des flavonoïdes pourrait être due à leur capacité à se combiner avec la paroi cellulaire bactérienne (Cowan, 1999) et par conséquent inhiber son évolution.

Cette étude réalisée sur 3 algues a mise en évidence la richesse potentielle de ce compartiment végétal marin. Les résultats obtenus indiquent que l'inhibition de croissance bactérienne dépend de 3 facteurs, la bactérie utilisée, la nature de l'extrait testé ainsi que sa concentration. Cependant, les extraits bruts sont des mélanges complexes de nombreux composés et leur part active peut être très faible. Des investigations complémentaires devraient se concentrer sur les tentatives de purification des composés actifs afin d'élucider leur structure chimique. L'extrait le plus actif s'est révélé non cytotoxique sur les cellules des glandes digestives de M. galloprovincialis. Les extraits d'A. taxiformis pourraient être une source de composés antimicrobiens pouvant être utilisés en aquaculture pour mieux contrôler les pathologies infectieuses piscicoles et en tant qu'éléments de nutrition. Selon Mellouk et al. (2017), l'utilisation d'extraits d'A. taxiformis en aquaculture pourrait représenter une méthode alternative contre les contaminations microbiennes dans des phases de stockage des mollusques et la désinfection de l'eau de mer rejetée, comme traitement antibiotique et antioxydant pour l'homme. Plusieurs recherches ont permis d'isoler et d'identifier la structure des flavonoïdes qui possèdent une activité antibactérienne. Certains chercheurs ont même signalé l'existence d'une synergie entre les flavonoïdes naturels et d'autres agents antibactériens contre des souches résistantes de bactéries. D'autres ont synthétiquement modifié les flavones naturels et ils ont analysé leur activité antibactérienne. En particulier, les tests reposant sur la diffusion des flavonoïdes peuvent ne pas fournir une mesure quantitative fiable de l'activité antibactérienne car un flavonoïde antibactérien puissant peut avoir un faible taux de diffusion (Zheng et al., 1996). L'utilisation de la même technique de dilution de l'inoculum bactérien, dans un rapport du Comité national pour les étalons de laboratoire clinique (NCCLS), l'inoculum était considéré comme la variable la plus importante dans les tests de susceptibilité, il existe d'autres facteurs variables pour chaque type de test. Le volume et le type de bouillon ou d'agar, la taille des puits ou la taille des disques de papier, les souches d'une espèce bactérienne particulière utilisée et la période d'incubation. Cependant, il restera impératif de considérer soigneusement des variables supplémentaires comme le solvant utilisé pour dissoudre les flavonoïdes testés. Il a déjà été montré que la précipitation se produit lorsque des flavonoïdes sélectionnés sont dissous dans des solvants organiques et dilués avec des solutions polaires neutres. La précipitation des flavonoïdes dans un essai de

concentration minimale inhibitrice (CMI) est susceptible de provoquer un contact réduit entre les cellules bactériennes et les molécules de flavonoïdes et peut conduire à des rapports faussement négatifs d'activité antibactérienne. De plus, dans des expériences faiblement contrôlées, la précipitation des flavonoïdes pourrait être interprétée comme une croissance bactérienne et d'autres résultats faussement négatifs pourraient être enregistrés en conséquence (Cushnie *et al.*, 2003).

# Conclusion générale

## **Conclusion générale**

Cette étude est une approche à la connaissance du macrophytobenthos des côtes est algériennes. Deux principaux aspects ont été abordés, l'un écologique et l'autre économique. En raison du manque de données précises et actualisées sur la composition de la flore algale, nous avons tenté de dresser un inventaire qualitatif aussi exhaustif que possible des algues de l'étage infralittoral accessible en plongée sous-marine. Etant donné l'importance des activités anthropiques dans la zone d'étude, notamment de la présence d'une pollution domestique et industrielle, nous nous sommes intéressés en second lieu à l'impact de la pollution sur les communautés algales de l'infralittoral supérieur du golfe d'Annaba. Vu l'intérêt économique portent les algues dans différents domaines (agroalimentaire, cosmétique, pharmaceutique, etc.), nous avons complété notre étude par le screening phytochimique en utilisant 3 espèces de macrophytes benthiques disponibles en quantités suffisantes le long des côtes est algériennes (A. taxiformis, C. spongiosum et H. scoparia). A partir des 3 extraits de ces 3 algues, nous avons étudié l'activité antibactérienne à la recherche des flavonoïdes en utilisant 5 souches bactériennes de référence ATCC (E. coli ATCC 25922 Gram-, P. aeruginosa ATCC 27853 Gram<sup>+</sup>, S. aureus ATCC 25923 Gram<sup>-</sup>, E. faecalis 29212 Gram<sup>+</sup>, K. pneumoniae ATCC 700603 Gram<sup>-</sup>). Ces germes constituent d'excellents modèles pour la recherche de l'effet antibactérien des substances naturelles ou de synthèses.

L'inventaire du macrophytobenthos réalisé au cap de Garde, en utilisant la plongée avec scaphandre autonome (0 à 40 m), nous a permis d'identifier un total de 91 espèces rattachées à 4 groupes différents: Chlorobiontes (12 espèces), Rhodobiontes (46), Phaeophycées (31 espèces) et Magnoliophytes (2 espèces). Ce Check-list inclut pour la première fois de nouvelles espèces pour l'Algérie et la Méditerranée (c.f. *Sargassum* sp. de l'Algérie). Parallèlement, nous avons entrepris une étude sur la répartition saisonnière et spatiale (cap de Garde, La Caroube, Port d'Annaba) des algues afin de mieux comprendre la résilience des communautés algales vis-à-vis de l'impact de la pollution, qui est essentiellement domestique et industrielle dans le golfe d'Annaba. En effet, l'analyse statistique portant sur la composition des algues, en fonction du site de chaque échantillon (toutes saisons, tous sites), a montré une différence hautement significative de l'abondance spécifique entre les 3 sites d'échantillonnage, ce qui suppose que les performances de résistance à la pollution et les possibilités d'adaptation diffèrent d'une espèce à une autre. A titre d'exemple, nous avons remarqué une abondance de *C. caespitosa* dans les 3 sites, une

abondance de *C. amentacia* et *V. utricularis* uniquement au cap de Garde, alors que *Cystoseira compressa*, *Sargassum vulgare* et *Amphiroa* sp.étaient plus abondantes au cap de Garde et en quantités limitées dans les zones urbanisées (''site B'' la Caroube) où nous avons trouvé une grande abondance de *Jania* sp, tandis que celle d'*Ulva* sp. est observée dans le site fortement pollué au voisinage du port. Cette étude, confortée par le calcul de 2 indices écologiques (EEI et CARLIT), nous a fourni des informations précieuses sur le niveau de contamination des eaux du golfe. Au vu des résultats obtenus, les stations la Caroube (S2) et le port d'Annaba (S3) se sont avérées les points chauds vis-à-vis de la pollution.

Enfin, le screening phytochimique a mis en évidence la présence en quantités appréciables des flavonoïdes et des O-hétérosides chez les 3 espèces sélectionnées. Quant à l'étude de l'activité antibactérienne sur les 5 souches de bactéries de référence, elle nous a montré une zone d'inhibition maximale pour l'extrait d'*A. taxiformis* sur la souche *S. aureus*. De ce fait, nous pouvons supposer que les flavonoïdes de cette espèce possèdent un effet antibactérien considérable. Des études complémentaires sont cependant nécessaires pour séparer, purifier et identifier les molécules actives responsables des effets antimicrobiens. La possibilité d'industrialisation de ces produits bioactifs naturels est un défi à relever pour le proche avenir.

En perspective, cette étude mérite d'être approfondie sur plusieurs aspects:

- ♣ Compléter l'inventaire du phytobenthos à d'autres secteurs côtiers limitrophes (El-Kala, Chetaibi, Skikda), en accordant un intérêt particulier pour les algues d'intérêt écologique, comme les Fucales (Sargasses et Cystoseires).
- ♣ Effectuer régulièrement des relevés floristiques et phytocénotiques des algues (cartographie) en général en mettant l'accent sur le suivi des communautés macroalgales indicatrices de la qualité des eaux marines, comme c'est le cas pour *Cystoseira amantacea* qui peuvent constituer des ceintures marines dans les eaux littorales épargnées des actions anthropiques.
- ♣ Instaurer des mécanismes ou des dispositifs de surveillance (monitoring), notamment pour les communautés algales sensibles à la pollution.
- ♣ Utiliser l'outil moléculaire chez les taxons macroalgaux où subsistent des doutes taxonomiques *via* l'utilisation des méthodes d'identification classiques, comme c'est le cas chez le genre *Sargassum* sp.
- ♣ Développer la recherche écologique fondamentale et appliquée (biosurveillance des écosystèmes côtiers *via* les études de contaminations métalliques des algues marines).

↓ Valoriser économiquement cette ressource naturelle, comme la phytoremédiation, l'agroalimentaire (extraction et purification de biomolécules, production de phycocolloïdes:
alginate, carraghénanes, agar, etc.), la santé animale (production de vaccins vétérinaires),
la pharmacologie et la cosmétique, les biomatériaux (matières bio-plastiques), la
production des fertilisants ou encore des énergies renouvelables (algocarburant, biogaz).
Cette valorisation nécessite inéluctablement la formation des compétences humaines et le
développement des techniques et méthodes nouvelles d'extraction des composés actifs
présents dans le matériel végétal marin.

# Résumés

#### Résumé

Cette étude a pour objectif principal la connaissance du compartiment macrophytes avec les possibilités de valorisation des algues en Algérie. En utilisant la plongée sousmarine, nous avons pu recenser dans la tranche bathymétrique 0-40 m un total 90 taxons macroalgaux dans le golfe d'Annaba. Pour étudier la distribution des communautés macroalgales en fonction d'un gradient d'anthropisation, trois stations (cap de Garde: site non anthropisé, La Caroube: site movennement anthropisé, Port d'Annaba: site hautement anthropisé) ont été échantillonnées entre avril 2014 et février 2015, dans la zone infralittorale supérieure. L'étude des échantillons prélevés a permis de recenser 35 taxons d'algues provenant de 108 quadrats. L'espèce Corallina caespitosa a été échantillonnée dans toute la zone, Cystoseira amentacea et Valonia utricularis étaient abondantes seulement dans la zone non polluée, Ulva sp. était très abondante dans la station hautement polluée, Cystoseira compressa, Sargassum vulgare et Amphiroa sp. étaient plus abondantes dans le site non pollué et en faibles quantités dans le site urbanisé, où se trouve une abondance de Jania sp.La valeur de couverture de chaque taxon a été mesurée et la structure de la végétation a été décrite. L'utilisation de l'analyse de la variance (PERMANOVA) basée sur les matrices de similarité S17 Bray Curtis a été compilée avec deux méthodes différentes: l'indice d'évaluation écologique EEI et la méthode CARLIT, la dernière est la meilleure pour indiquer le modèle de perturbation de la zone d'étude.

Au total, 9 espèces du genre Sargassum (Phaeophyceae) sont actuellement validées en Méditerranée: S. acinarium, S. desfontainesii, S. flavifolium, S. furcatum, S. hornschuchii, S. muticum, S. ramentaceum, S. trichocarpum et S. vulgare. Les espèces S. desfontainesii et S. furcatum sont des espèces Atlantico-méditerranéennes alors que S. hornschuchii, S. ramentaceum et S. trichocarpum sont endémiques à la Méditerranée. La présence du S. flavifolium originaire d'Atlantique en Méditerranée est au moins en partie basée sur une erreur d'identification et nécessite donc une confirmation. Près d'Alger et d'Annaba (Algérie), un taxon de Sargassum partageant la plupart des caractères avec S. flavifolium a été collecté. Ce taxon, appelé algérien Sargassum sp. est décrit et illustré. Sa distribution et son écologie en Algérie sont présentées. Ce taxon diffère de S. flavifolium par ses feuilles de petite taille, non ramifiées, et des réceptacles de petite taille, ramifiées dans toutes les directions et dépourvues de pédicelle stérile ramifié à leur base. En l'absence de données génétiques et d'une étude du type de S. flavifolium, des localités de syntypes: Antilles et Biarritz, une description d'un nouveau taxon serait prématurée.

Dans le dernier chapitre, trois extraits ont été utilisés pour l'activité antibactérienne et testés sur 5 bactéries de références. La différence de sensibilité des 5 souches bactériennes peut être attribuée à la nature chimique des extraits testés ainsi que la nature des souches bactériennes. L'extrait butanolique riche en flavonoïdes peut présenter des zones d'inhibitions considérables sur les 5 souches où le maximum de  $30,66 \pm 0,44$  mm est noté pour l'extrait S1 sur *Staphylococcus aureus*. Cet extrait est le plus actif caril peut présenter des zones d'inhibition considérable sur les 5 souches bactériennes avec un maximum de concentration minimale inhibitrice de 40 mg/ml.

Mots clés: Algues, Ecologie, Valorisation, Golfe d'Annaba, Algérie, Méditerranée.

#### **Abstract**

The main objective of this study is a better understanding of the macrophytic compartment from an ecological and economic point of view. Using scuba diving along the eastern coast of Algeria, we have inventoried 90 macoalgal taxa between 0 and 40 m. To study the distribution of macroalgal communities according to an anthropisation gradient, three stations (Cap de Garde: non-anthropized site, La Caroube: moderately anthropized site, Port d'Annaba: highly anthropized site) were sampled between April 2014 and February 2015, in the upper infralittoral zone. The study of samples collected 35 algal taxa from 108 quadrats. Corallina caespitosa was collected throughout the area, Cystoseira amentacea and Valonia utricularis were abundantonly in the unpolluted zone, Ulva sp. wasvery abundant in highly polluted station, Cystoseira compressa, Sargassum vulgare and Amphiroa sp. were more abundant in the unpolluted site and in small amounts in the urbanized site, where there is an abundance of Jania sp. The coverage value of each taxon was measured, and the structure of the vegetation was described. The use of the multivariate perimetric analysis of variance (PERMANOVA) based on the S17 Bray Curtis similarity matrices were compiled with two different methods: the EEI ecological assessment index and the CARLIT method, the latter allowing to indicate the disturbance model of the study area.

Nine species of the genus *Sargassum* (Phaeophyceae, Kingdom Stramenopiles) are currently accepted in the Mediterranean: *S. acinarium, S. desfontainesii, S. flavifolium, S. furcatum, S. hornschuchii, S. muticum, S. ramentaceum, S. trichocarpum* and *S. vulgare. Sargassum desfontainesii* and *S. furcatum* are Atlantico-Mediterranean species. *Sargassum hornschuchii, S. ramentaceum* and *S. trichocarpum* are endemic to the Mediterranean. The presence of *S. flavifolium* of atlantic in the Mediterranean is at least partly based on an identification error and therefore requires confirmation. Near Algiers and Annaba (Algeria), a *Sargassum* taxon sharing most of the characters with *S. flavifolium* was collected. This taxon, called Algerian *Sargassum* sp. is described and illustrated. Its distribution and ecology in Algeria are presented. This taxon differs from *S. flavifolium* in its small, unbranched leaves, small in size, branched in all directions and lacking a pedicel branching at the base. In the absence of genetic data and a study of the type of *S. flavifolium*, localities of syntypes: West Indies (Antilles) and Biarritz, a description of a new taxon would be premature

In last chapter 3 extracts were used for bacterial activity on 5 reference bacteria. The difference in sensitivity of the 5 bacterial strains can be attributed to the chemical nature of the extracts tested as well as the nature of the bacterial strains. Butanolic extract rich in flavonoids may have considerable areas of inhibition on the 5 strains where the maximum of  $30.66 \pm 0.44$  mm is noted for the extract S1 on *Staphylococcus aureus*. This extract is the most active because it can have zones of considerable inhibition on the 5 bacterial strains with a maximum of minimum inhibitory concentration of 40 mg/ml.

**Keywords:** Algue, Ecology, Valorisation, Algerian coast, Mediterranean.

#### ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد المعارف حول الطحالب مع إمكانية تطويرها في الجزائر. عن طريق الغوص ، تمكنا من تحديد 90 صنف طحلبي في الأعماق ما بين 0 و 40 م في خليج عنابة. لدراسة توزيع المجمعات الطحلبية على أساس التأثيرات البشرية، أخذت عينات من ثلاث محطات من أفريل 2014 إلى فيفري 2015 (موقع cap de Garde: ليس تحت تأثير بشري، الع المنطقة المنطقة عنابة: تحت تأثير بشري كبير)، في المنطقة تحت المدية العليا، دراسة العينات مكنتنا من رصد 35 صنف من الطحالب مأخوذة من 108 مربع.

تم أخذ عينات من صنف Corallina caespitosa من جميع أنحاء المنطقة، Cystoseira amentacea من جميع أنحاء المنطقة الملوثة، موجودة بوفرة في المنطقة الملوثة، عير الملوثة فقط. Qlva sp. كانت موجودة بوفرة في المنطقة الملوثة و utricularis كانوا بوفرة أكثر في المنطقة غير الملوثة و Cystoseira compressa ، Sargassum vulgare كانوا بوفرة أكثر في المنطقة غير الملوثة و بكميات قليلة في المنطقة الحضرية. كما هو الحال بالنسبة للنوع sp. نتم قياس قيمة التغطية لكل نوع تم وصف بكميات قليلة في المنطقة الحضرية. كما هو الحال بالنسبة للنوع PERMANOVA على أساس مصفوفات التشابه التباين عودج اضطراب جمعوا بطريقتين مختلفتين: مؤشر التقييم البيئي EEI ، و طريقة CARLIT هذه الأخيرة تمثل أحسن نموذج اضطراب المنطقة المدروسة.

في المجموع 9 أنواع من صنف: Sargassum (Phaeophyceae) موثقة حاليا في البحر الأبيض المتوسط: 
« S. acinarium « S. desfontainesii « S. flavifolium « S. furcatum « S. hornschuchii « S. muticum ».

S. vulgare و S. ramentaceum, S. trichocarpum

الأنواع S. furcatum و S. desfontainesii هم أنواع أتلانتيكو متوسطية ، في حين S. hornschuchii الأنواع S. trichocarpum هم متوطنين في البحر الأبيض المتوسط.

وجود S. flavifolium ذات أصول أطلسية في البحر الأبيض المتوسط، تعود جزئيا إلى خطأ في التصنيف، ويجب التأكد منه بالقرب من الجزائر و عنابة تم جمع صنف Sargassum الذي يشارك معظم خصائصه مع S. flavifolium هذا الصنف المسمى .Sargassum sp الجزائري تم وصفه وتصويره المعلومات حول توزيعها و إيكولوجيتها في الجزائر موجودة هذا النوع يختلف عن S. flavifolium بأوراقه الصغيرة غير المتفرعة وأوعية صغيرة، متشعبة في جميع الإتجاهات وتفتقر إلى سويقة عقيمة متفرعة في قاعدتها. في غياب البيانات الوراثية والدراسة حول نوع S. flavifolium

، الخاصة بجزر الهند الغربية وبياريتز، وصف هذا الصنف غيرممكن حاليا ويتطلب دراسة معمقة. في آخر فصل تم استخدام ثلاثة مستخلصات لدراسة النشاط المضاد للبكتيريا وتم اختبارها على 5 بكتيريا مرجعية. الفرق في حساسية السلالات البكتيرية الخمسة يمكن أن يكون عائد إلى الطبيعة الكيميائية للمستخلصات المختبرة وكذلك طبيعة السلالات البكتيرية. مستخلص بوتانوليك الغنية بالفلافونيدات قد يكون لها مساحات تثبيط كبيرة على السلالات البكتيرية الخمسة حيث الحد الأقصى \$30,6 ±40,0 ملم يعود إلى المستخلص \$1 على \$30,6 على \$1 كلفر المستخلص هو الأكثر نشاطا لأنه يمكن أن يكون له تثبيط كبير على السلالات البكتيرية الخمسة بتركيز 40 ملغ مل كحد أدنى.

الكلمات المفتاحية: الطحالب، الإيكولوجيا، التثمين، خليج عنابة، الجزائر، البحر الأبيض المتوسط.

# Références bibliographiques

# Références bibliographiques

# $\mathbf{A}$

- Adão, C.R., Da Silva, B.P., Parente, J.P., 2011. A new steroidal saponin from *Allium ampeloprasum* var. *porrum* with antiinflammatory and gastroprotective effects. *Phytochemistry Letters*, 4: 306-10.
- Adesokan, A.A., Akanji, M.A., Yakubu, M.T., 2007. Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *African Journal of Biotechnology*, 6(22): 2502-2505.
- Andrade, L.R., Farina, M., Filho, G.M.A., 2004. Effects of copper on Enteromorpha flexuosa (Chlorophyta) in vitro. *Ecotoxicology, Environment and Safety*, 58: 117-125.
- Amada Filho, G.M., Karez, C.S., Andrade, L.R., Yoneshigue-Valentind, Y., Pfeiffer, W.C., 1997. Effects on growth and accumulation of zinc in six seaweed species. *Ecotoxicology, Environment and Safety*, 37: 223-228.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004a. Nutriments minéraux dissous (nitrite, nitrate, ammonium, phosphate, silicate). In : Aminot, A., Kérouel, R. (Eds.), hydrobiologie des écosystèmes marins : paramètres et analyses. Edition Ifremer. Brest. 217-283.
- Ammour, F., Beggache, A., Houli, S., Touil, Y., 2011. Elimination du zinc et du cadmium par des algues vertes. 1<sup>er</sup> Séminaire International sur la Ressource en eau au Sahara: Evaluation, Economie et Protection, 19-20 janvier 2011, Ouargla, 140-148.
- Amri, S., 2018. Utilisation de l'oursin Paracentrotus lividus (Lamarck, 1816) en tant que bioindicateur général de la qualité du milieu marin. Thèse de doctorat. Option : Biologie animale. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 228p. Disponible sur: http://biblio.univ-annaba.dz.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26: 32-46.
- Anonyme, 1996. Etude d'extension du port de la pêche de Stora. Avant projet sommaire. Rapport, juillet, 13 p.
- Anonyme, 2013. Les nanobiotechnologie dans l'alimentaire. Veille Technique et Alimentaire, Bulletin n°8, 7p.
- Arnoux, A., Bellan-Santini, D., 1972. Relations entre la pollution du secteur de Cortiou par les détergents anioniques et les modifications des peuplements de *Cystoseira stricta*. *Tethys.*, 4: 583-586.

- Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., Khebri, S., 2010. Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cuminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11(1): 69-81.
- Augier, H., Boudouresque, C.F., 1970a. Végétation marine de l'île de Port-Cros (Parc National). VI. Le récif barrière de Posidonies. *Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle de Marseille*. 30: 221-228.
- Augier, H., Boudouresque C. F., 1970b. Végétation marine de l'île de Port-Cros (Parc National). V. La baie de Port-Man et le problème de la régression de l'herbier de Posidonies. *Bulletin du Muséum d'Histoire Naturelle de Marseille*. 30: 145-164.
- Aworet Samseny, R., 2003. Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le strychnos icaja baillon (mbundu); Loganiacée. Thèse de doctorat, 89 p.
- Ayada, M., Amira, A. B., Ritima, A., 2018. Distribution of the Tripos species (dinoflagellata) from Annaba Bay (Southwestern Mediterranean Sea). *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 12(2): 40-50.
- Azevedo, J., Fernandes, I., Faria, A., Oliveira, J., Fernandes, A., de Freitas, V., Mateus, N., 2010. Antioxidant properties of anthocyanidins, anthocyanidin-3-glucosides and respective portisins. *Food Chemistry*, 119: 518-523.

#### В

- Balde, A.M., Van Hoof, L., Pieters, L.A., Vanden Berghe, D.A., Vlietinck, A.J., 1990. Plant antiviral agents. VII. Antiviral and antibacterial proanthocyanidins from the bark of *Pavetta owariensis. Phytotherapy Research*, 4: 182-8.
- Ballesteros, E., 1988. Estructura y dinamica de la communidad de *Cystoseira mediterranea* Sauvageau en el Mediterraneon or occidental. *Investigacion Pesquera*, 52(3): 313-334.
- Ballesteros, E., 1990. Structure and dynamics of the *Cystoseira caespitosa* (Fucales, Phaeophyceae) community in the North-Western Mediterranean. *Scientia Marina*, 54: 155-168.
- Ballesteros, E., Martin, D., Uriz, M.J., 1992. Biological Activity of Extracts from Some Mediterranean Macrophytes. *Botanica Marina*, 35: 481-485.
- Ballesteros, E., Torras, X., Pinedo S., Garcia M., Mangialajo L., de Torres M., 2007. A new methodology based on littoral community cartography for the implementation of the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulltin*, 55: 172-180.

- Banks, W., Greenwood, C.T., 1975. Fractionation of the starch granule and the fine structure of its components. Starch and its components, Edinburgh University Press, Edinburgh, 5-66.
- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S., Lindequist, U., 2006. Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252: 79-84.
- Barry, A.L., Thornsberry, C.,1985. Susceptibility test, diffusion test procedure. *American Journal of Clinical Pathology*. 19: 492-500.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, T.C., Truck, M.,1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45: 493-496.
- Bazes, A., Silkina, A., Douzene, P., Faÿ, F., Kervarec, N., Morin, D., Berge, J.P., Bourgougnon, N., 2009. Investigation of the antifouling constituents from the brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Journal of Applied Phycology*, 21(4): 395-403.
- Békro, Y.A., Mamyrbekova Békro, J.A., Boua, B.B., Tra Bi, F.H., Éhilé, E.E., 2007. Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). *Science Nature*, 4(2): 217-225.
- Beisel, J.N., Peltre, M.C., Usseglio-Polatera, P., 2011. Impact de la pollution saline sur la biocénose aquatique de la Moselle. Rapport réalisé à la demande de la CIPMS par le laboratoire LIEBE, UPV-Metz, CNRS UMR 7146, 59 p.
- Belayachi, D.A., Belhadj Amara, K., 2014. Etude de l'intérêt de *Dunaliella sauna* (microalgue halophile) sur la culture de l'Artémie en Oranie. Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Algérie, 97p.
- Belkadi, M.E.A., 2009. Etude technique pour la valorisation énergétique des microalgues. Mémoire de magistère, Université de Boumerdes, Algérie, 79p.
- Belkahla, M., 2011, Etude des macrophytes marins de la région du cap de garde (Golfe d'Annaba): inventaire et répartition bathymétrique. Rapport de stage, Licence en biologie marine. Université badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 46 p.
- Belsher, T., 1977. Analyse des répercussions de pollutions urbaines sur les macrophytobenthos de Méditerranée (Marseille, Port-Vendres, Port-Cros). Thèse Doctorat 3°cycle, Université d'Aix-Marseille II, France.

- Bellan-Santini, D., 1966. Influence des eaux polluées sur la faune et la flore marines benthiques dans la région marseillaise. *Tech. Sci. Municipales*, France, 61(7): 285-292.
- Bendschneider, K., Robinson, R.J., 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research*, 11: 87-96.
- Benhissoune, S., 2002. Contribution à l'étude de la flore des macroalgues marines du Maroc (Méditerranée et Atlantique). Thèse Doctorat d'Etat, Université Mohammed V, Rabat, 250 p.
- Berkoff, N., 1998. Focus on Flavonoids. http://www.healthwell.com/ hn break throughs/sep 98/ flavonoids. cfm? path=hw.
- Bianchi, C., Morri, C., 2000. Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Marine Pollution Bulletin*, 40(5): 367-376.
- Bianchi, C.N., Corsini-Foka, M., Morri, C., Zenetos, A., 2014. Thirty years after: dramatic changes in the coastal marine ecosystems of Kos Island (Greece), 1981-2013. *Mediterranean Marine Sciences*, 15: 482-497.
- Blanfuné, A., Thibaut, T., Boudouresque, C.F., Mačić, V., Markovic, L., Palomba, L., Verlaque, M., Boissery, P., 2017. The CARLIT method for the assessment of the ecological quality of European Mediterranean waters: Relevance, robustness and possible improvements. *Ecological Indicators*, 72: 249-259.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Hu, W.P., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R., 2008. Marine natural products. *Natural Products Reports*, 25: 35-94.
- Bolou, G.E.K., Attioua, B., N'Guessan, A.C., Coulibaly, A., N'Guessan, J.D., Djaman, A.J., 2011. Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de Terminalia glaucescens planch. sur *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 80: 772-790.
- 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. *Botanica Marina*, 51: 472-484.
- Bouchareb, N., 2013. Transferts et géochimie de l'azote, du phosphore et du silicium des bassins des oueds Kebir-Rhumel, Kebir ouest et Saf-Saf au littoral. Thèse de doctorat. Option : environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.117. Disponible sur : http://biblio.univ-annaba.dz.
- Boudinar, A.S., 2016. Recherches sur la morphologie et la génétique du complexe Atherina boyeri en Méditerranée occidentale et biologie de l'espèce dans la lagune Mellah.

- Thèse de doctorat. Option: bioressources marines. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. p.182. Disponible sur : http://biblio.univ-annaba.dz.
- Boudjella, I., 2015. Dosage des composés phénoliques chez *Posidonia oceanica* (L., 1813) Delile, des herbiers de la côte Ouest algérienne (Ain Franin, cap Carbon et Sidi Lakhdar). Mémoire de magistère, Université d'Oran, 174p.
- Boudouresque, C.F., 1969. Etude qualitative et quantitative d'un peuplement algal à *Cystoseira mediterranea* dans la région de Banyuls sur Mer. *Vie et Milieu*, 20: 437-452.
- Boudouresque, C.F., 1971. Recherches de bionomie analytique, structurale et expérimentale sur les peuplements benthiques sciaphiles de Méditerranée occidentale (fraction algale): la sous-stratesciaphile des peuplements de grandes *Cystoseira* de mode battu. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, Marseille, 31: 141-151.
- Boudouresque, C.F., Passelaigue, F., 1972. Note préliminaire sur le peuplement algal des biotopes sciaphiles superficiels battu de substrat rocheux dans la région de Marseille. Bulletin du Muséum National d'Histoire Natturelle, Marseille XXIV: 165-187.
- Boudouresque, C.F., 1973. La sous strate sciaphile des peuplements de grandes Cystoseires clydonophiles en Méditerranée occidentale (fraction algale). *Commission internationale pour l'exploration scientifique de la mer méditerranée* 21(9): 637-641.
- Boudouresque, C.F., Belsher, T., 1979. Le peuplement algal du port de Port-Vendres: Recherches sur l'aire minimale qualitative. *Cahiers de Biologie Marine*, 20: 259-269.
- Boudouresque, C.F., Meinesz A., 1982. Découverte de l'herbier de Posidonie. *Cahiers du Parc national Port-Cros*, France, 4: 1-79.
- Boudouresque, C.F., Charbonnel, E., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Cadiou, G., Bertrandy, M.C., Foret, P., Ragazzi, M., Rico-Raimondino, V., 2000. A monitoring network based on the seagrass *Posidonia oceanica* in the north-western Mediterranean Sea. *Biologia Marina Mediterranea*, 7(2): 328-331.
- Boudouresque, C.F., Verlaque, M., 2002. Biological pollution in the Mediterranean Sea: invasive versus introduced macrophytes. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 32-38.
- Boudouresque, C.F., Bernard, G., Bonhomme, P., Charbonnel, E., Divacco, G., Meinesz, A., Pergent, G., Pergent-Martini, C., Ruitton, S., Tunesi, L., 2006. Préservation et conservation des herbiers à *Posidonia oceanica. Ramoge publication*, 202p.
- Bouiadjra, B. B., Taleb, M. Z., Marouf, A., Benkada, M. Y., Riadi, H., 2010. First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) in the Gulf of Arzew (western Algeria). *Aquatic Invasions*, 5: 97-101.

- Bouhayene, S., 2002. Contribution à la connaissance des herbiers à *Posidonia oceanica* dans la baie d'Annaba (Est algérien): Phénologie, biomasse, lépidochronologie et production primaire. Mémoire de Magister en Sciences de la Mer, option: Biologie et Physiologie des Organismes marins, Université Badji-Mokhtar, Algérie.
- Bouhlal, R., Riadi, H., Martínez, J., Bourgougnon, N., 2010. The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 9(38): 6365-6372.
- Boumaza, S., Semroud, R., 1998. Premières données sur la production primaire d'un herbier à *Posidonia oceanica* (L.) DELILE en Algérie (Anse de Kouali, Tipaza). *Commission internationale pour l'exploration scientifique de la mer méditerranée*, 35: 524-525.
- Bouquet A., 1972. Plantes Médicinales du Congo Brazzaville. Ed: O.R.S.T.O.M.
- Boutabia-Trea, S., Habbachi, W., Bensouilah, M., 2015. Evaluation of the Metallic Contamination Level in the Gulf of Annaba ((North eastern Algeria) Using a *Posidonia oceanica* (L) Delile. *Advances in Environmental Biology*, 9(2): 75-81.
- Boutabia-Trea, S., Habbachi, W., Bensouilah, M., 2017. 2017. Assessment of metallic trace elements using the seagrass Posidonia oceanica and the surface sediment from North Eastern of Algeria. *Asian Journal of Biological Sciences*, 10: 17-26.
- Breugnot, E., Dutartre, A., Laplace-Treyture, C., Haury, J., 2004. Variabilité des peuplements de macrophytes aquatiques en grands cours d'eau : premiers résultatssur l'hydrosystème Adour-Garonne. Ingénieries n°37, 50 p.
- Bricker, S.B., Clement, C.G., Pirhalla, D.E., Orlando, S.P. and Farrow, D.R.G., 1999. National estuarine eutrophication assessment: effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries. NOAA, National Ocean Service, Special Projects Office and the National Centers for Coastal Ocean Science, Silver Spring, MD, 71p.
- Bruneton, J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> Edition, Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.
- Bruneton, J., 2009. Pharmacognosie Phytochimie, Plantes médicinales, Tec & Doc, Médicales internationales (Eds.), 4<sup>ème</sup> Edition.
- Burreson, B.J., Moore, R.E., Roller, P., 1975. Haloforms in the essential oil of the alga *Asparagopsis taxiformis* (Rhodophyta). *Tetrahedron letters*, 473-476.
- Burreson, B.J., Moore, R.E., Roller, P.P., 1976. Volatile halogen compounds in the alga *Asparagopsis taxiformis* (Rhodophyta). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 24: 856-861.

Burkholder, P.R., Burkholder L.M., Almodovar L.R., 1960. Antibiotic activity of some marine algae of Puerto Rico. *Botanica Marina*, 2: 149-156.

 $\mathbf{C}$ 

- Cantrill, R., 2008. Phytosterols, phytostanols and their esters. (CTA), the 69<sup>th</sup> JECFA Page 2(13).
- Carpita, N.C., McCann, M., 2000. The cell well. In *Biochemistry and Molecular Biologie of plants*. In Biochemistry and Molecular Biology of Plants (Buchanan, B.B., Gruissem, W. and Jones, R.L., eds). Rockville, MD: *American Society of Plant Physiologists*, 52-108.
- Cassab, G.I., 1998. Plant cell wall proteins. Ann. Rev. Physiol. Plant Mol. Biol., 49, 281-309.
- Chandini, S.K., Ganesan, P., Bhaskar N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry*, 107: 707-713.
- Chauvin, C., Bertrin, V., Boutry, S., Feret, T., Loriot, S., *et al.*, 2014. Des méthodes basées sur les peuplements de macrophytes pour évaluer l'état écologique des milieux aquatiques. Sciences Eaux and Territoires. Revue du IRSTEA, *Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture*, 54-59.
- Cheng, P.C., Wong, G., 1996. Honey bee propolis: prospects in medicine. *Bee World*, 77: 8-15.
- Cirik, S., Morsli, M., 1986. Etude préliminaire sur les algues du golfe de Béjaia. Mémoire de DES, Béjaia, 65 p.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 1994. Similarity-based testing for community pattern: the two-way layout with no replication. *Marine Biology*, 118: 167-176.
- Clarke, K.R., Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial (PRIMER-E, Plymouth, UK).
- Cloern, J.E., 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem.

  Marine Ecology Progress Series, 210: 223-253.
- Combaut, G., Chantraine, J.M., Teste, J., Glombitza, K.W., 1978. Phenols bromés des algues rouges: cyclotribromoveratrylene, nouveau derivé obtenu au cours de l'extraction de *Halopithys pinastroides*. Phytochemistry, 17: 1791-1792.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F.B.R., 2010. The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PloS One*, 5 (8), e11842.

- Conte, E., Payri, C., 2002. La consommation des algues en Polynésie française : premiers résultats d'une enquête. *Journal De La Societe Des Oceanistes*, 114-115.
- Cormaci, M., Furnari, G., Catra, M., Alongi, G., Giaccone, G., 2012. Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae. *Bollettino Accademia Gioenia scienze naturali*, 45(375): 1-508.
- Cormaci, M., Furnari, G., Alongi, G., 2014. Flora marina bentonica del Mediterraneo: Chlorophyta. *Bollettino Accademia Gioenia scienze naturali*, 47 (377): 11-436.
- Cowan, M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- Craigie, J.S., 1990. Cell walls. In *Biology of Red Algae*,. Edited by K.M. Cole & R.G. Sheath. University Press, Cambridge :221-257.
- Cushnie, T.P.T, Hamilton, V.E.S., Lamb, A.J., 2003. Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Research*, 158: 281-9.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.

## D

- Dauer, D.M., 1993. Biological criteria, environmental health and estuarine macrobenthic community structure. *Marine Pollution Bulletin*, 26 (5): 249-257.
- Debray, F., 1893. Liste des algues marines et d'eau douces récoltées jusqu'à ce jour en Algérie. *Bulletin Scientifique France et Belgique* XXV.: 1-19 p.
- Debray, F., 1897. Catalogue des algues du Maroc, Algérie et de la Tunisie. Librairie Adolphe Jourdan, Alger. 77p.
- Delmail, D., 2011. Contribution de *Myriophyllum alterniflorum* et de son périphyton à la biosurveillance de la qualité des eaux face aux métaux lourds. Université de Limoges, France.
- Delmail, D., 2014. Risk management of european inland waters using macrophytes biomonitoring. *Frontiers in Environmental Science*, 2(31): 1-4.
- Derbal, F., Kara, M.H., 2010. Composition et variations du peuplement ichtyologique de l'herbier superficiel à *Posidonia oceanica* (L.) Delile, dans la baie d'Annaba (Algérie est). *Revue d'Ecologie* (Terre Vie), 65: 1-11.

- Dewarumez, J.M., Gevaert, F., Massé, C., Foveau, A., Grulois, D., 2011. Les espèces marines animales et végétales introduites dans le bassin Artois-Picardie. UMR CNRS 8187 LOG et Agence de l'Eau Artois-Picardie.140 p.
- Dhont, F., Coppejans, E., 1977. Résultats d'une étude d'aire minima des peuplements algaux photophiles sur substrat rocheux à Port Cros et à Banyuls (France). Rapp. P.V. Reun. Commission Internationale Pour L'exploration Scientifique De La Mer Méditerranée, 24 (4): 141-142.
- Diez, I., Secilla, A., Santolaria, A., Gorostiaga, J.M., 1999. Phytobenthic intertidal community structure along an environmental pollution gradient. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 463-472.
- Diez, I., Santolaria, A., Gorostiaga, G.M., 2003. The relationship of environmental factors to the structure and distribution of subtidal seaweed vegetation of the western Basque coast (N Spain). *Estuarine, Coastal and Shelf Sciences*, 56: 1041-1054.
- Djabri, L., 1992. Mécanismes de la pollution et vulnérabilité des eaux de la Seybouse. Origines géologiques, industrielles, agricoles et urbaines. Thèse de Doctorat d'Etat, Université Badji-Mokhtar, Algérie.
- Djabri, L., Mania, D., Messadi, A., Hani R., Djaffer, S., Dffer, S., Benharket, S., Djabri, A., Aidaoui, K., Boukhmis, A., 1998. Pollution des eaux de l'oued Seybouse et des nappes de Guelma, Bouchegouf et Annaba (Est algérien) par les nutriments. *Bulletin International Eau & Environment*, 20: 16-25.
- Djahra, A.B., 2014. Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Option: Biologie Végétale, Université Badji Mokhtar, Annaba, 114 p.
- Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Idrissi Hassani, L.M., Badoc, A., Gmira, N., 2003. Screening phytochimique d'une endémique Ibéro-marocaine *Thymelaea lythroides*. *Bull. Soc. Pharm.* Bordeaux, 142, 61-78.
- Draredja, B., 2007. Structure et fonctionnement d'un milieu lagunaire Méditerranéen: Lagune Mellah (El-Kala, Algérie Nord-est). Thèse de doctorat d'état en sciences de la Mer. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 204p. Disponible sur : http://biblio.univ-annaba.dz.

 $\mathbf{E}$ 

- El Hattab- Bouzidi, D., 2003. Détermination des stérols de l'algue rouge *Asparogopsis armata* par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier en employant l'extraction en phase solide: Etude comparative avec la chromatographie liquide à haute performance. Mémoire de magistère, Université de Blida, Algérie, 87p.
- Emerson, G.A., Taft, C.H., 1945. Pharmacologically active agents from the sea. *Texas Reports on Biology and Medicine*, 3: 302-338.
- Eloff, J.N., Jäger, A.K., van Staden, J., 2001. The stability and relationship between anti-inflammatory activity and antibacterial activity of southern African Combretum species. *South African Journal of Science*, 97: 291-293.

F

- Fairweather, P.G., 1990. Sewage and the biota on seashores: assessment of impact in relation to natural variability. *Environmental Monitoring and Assessment*, 14: 197-210.
- Falquet, J., Hurni, J. P., 2006. Spiruline, aspects nutritionnels. Antenna Technologies, 41p.
- Feldmann, J., 1931. Contribution à la flore algale marine de l'Algérie. Les algues de Cherchell. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord*, 22: 179-254.
- Feldmann, J., 1933. Contribution à la flore algologique marine de l'Algérie (fascicule 2). Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord, 24: 360-366.
- Feldmann, J., 1937-1938. Recherche sur la végétation marine de la Méditerranée: la côte des Albères. *Revue Algologie*, France, 10 (1-4): 340 p.
- Feldmann, J., 1941. Un nouveau Peyssonneylia des côtes Nord africaines. *Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord*, 32: 284-288.
- Feldmann, J., 1956. Sur la parthénogenèse du Codium fragille (Sur.) Hariot. Dans la Méditerranée. *C. R. Acad. Sci.* Paris, France, 243: 305-307.
- Feldmann, J., Feldmann, G., 1937. Addition à la flore des algues marines de l'Algérie. Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord, 28: 318-321.
- Feldmann, J., Feldmann, G., 1939 a. Addition à la flore des algues marines de l'Algérie. Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord, 30 (2): 453-464.
- Feldmann, J., Feldmann, G., 1939 b. Addition à la flore des algues marines de l'Algérie. Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord, 33 (3): 230-245.

- Feldmann, J., Feldmann, G., 1939 c. Addition à la flore des algues marines de l'Algérie. Bulletin de la Société d'histoire naturelle d'Afrique du Nord, 33 (4): 80-91.
- Feldmann, G., 1940. Recherche sur les Ceramiaceae de la Méditerranée occidentale. Impr. Minerva, Alger, Algérie. 510 p.
- Fenical, W., 1975. Halogenation in the Rhodophyta e a review. *Journal of phycology*, 11: 245-259.
- Fenical, W., 1982. Natural products chemistry in the marine environment. *Science*, 215: 923-928.
- Fenical, W., Paul V.J., 1984. Antibiotic and cytotoxic terpenoids from tropical green algae of the family Udoteaceae. *Hidrobiologia*, 116/117: 137-140.
- Francour, P., 1990. Dynamique de l'écosystème à Posidonia oceanica dans le parc national de Port-Cros : analyse des compartiments matte, litière, faune vagile, échinodermes et poissons. Thèse de doctorat en Biologie. Océanologie. Paris 6.
- Frehi, H., 1995. Etude de la structure et du fonctionnement du système phytoplanctonique dans un écosystème marin côtier. Eutrophisation de la baie d'Annaba. Thèse de Magister, Université Badji-Mokhtar, Algérie
- Frehi, H., Ayada, M., Kara, M. H., Coute, A., 2004. Hydrobiologie de la baie d'Annaba (Algérie nord-est): Caractères physico-chimiques et biomasse chlorophyllienne. *Commission internationale pour l'exploration scientifique de la mer méditerranée*, 37 p.

# G

- Galil, B.S., 2000. A sea under siege-alien species in the Mediterranean. *Biological Invasion*, 2: 177-186.
- Garon-Lardiere, S., 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale, 332 p.
- Gavira, C., 2013. Production de terpènes fonctionnalisés par les cytochromes P450 de plantes recombinants. Thèse de doctorat. Biochimie et biologie moléculaire. Université de Strasbourg, France, 284 p.
- Genovese, G., Tedone, L., Hamann, M.T., Morabito, M., 2009. The mediterranean red alga asparagopsis: A source of compounds against leishmania. *Marine Drugs*, 7: 361-366.
- Gerbal, M., Verlaque, M., 1995. Macrophytobenthos de substrat meuble de l'étang de Thau (France, Méditerranée) et facteurs environnementaux associés. *Oceanologica Acta*, 18 (5): 557-571.

- Gervasoni, E., Ritter, L., 2012. Diversification des élevages: Etude des potentialités de culture de macro-algues alimentaires en Languedoc-Roussillon, CEPRALMAR, 25p.
- Giaccone, G., Bruni, A., 1972-1973. Le Cistoseire e la vegetazion esommersa del Mediterraneo. *Atti dell' Instituto Veneto de Scienze*, 81: 59-103.
- Gibson, G.R., Bowman, M.L., Gerritsen, J., Snyder, B.D., 2000. Estuarine and Coastal Marine Waters: Bioassessment and Biocriteria Technical Guidance. EPA 822-B-00-024.U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.
- Gonçalves, J.L.S., Leitão, S.G., Delle Monache, F., 2001. In vitro antiviral effect of flavonoid-rich extracts of *Vitex polygama* (Verbenaceae) against acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1. *Phytomedicine*, 8(6): 477-480.
- González del Val, A., Platas, G., Basilio, A., Cabello, A., Gorrochtegui, J., Suay, I., Vicente, F., Portillo, E., Del Rio, M.J., Reina, G.G., Pelaez, F., 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *International Microbiology*, 4: 35-40.
- Gorostiaga, J.M., Diez, I., 1996. Changes in the sublittoral benthic marine macroalgae in the polluted area of Abrade Bilbao and proximal coast (northernSpain). *Marine Ecology Progress Series*, 130: 157-167.
- Grognet, J.M., 2004. Les nano-biotechnologies. *Annales des mines*, 59-63.

#### H

- Hansen, A.L., Robinson, R.J., 1953. The determination of organic phosphorus in sea water with perchloric acid oxidation. *Journal of Marine Research*, 12: 31-42.
- Harborne, J.B., 1975. The Flavonoids. Chapman & Hall, London, 635p.
- Harborne, J.B., Baxter, H., 1999. The handbook of natural flavonoids, Vols 1 and 2. *Chichester*, UK: John Wiley and Sons.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481-504.
- Haritonidis, S., Jager, H.J., Schwantes, H.O., 1983. Accumulation of cadmium, zinc, copper, and lead by marine macrophyceae under culture conditions. *Angewandte Botanik*, 57: 311-330.
- Haury, J., Peltre, M.C., Muller, S., Thiebaut, G., Tremolieres, M., Demars, B., Barbe, J., Dutartre, A., Daniel, H., Bernez, I., Guerlesquin, M., Lambert, E., 2000. Les macrophytes aquatiques bioindicateurs des systèmes lotiques Intérêts et limites des

- indices macrophytiques. Synthèse bibliographique des principales approches européennes pour le diagnostic biologique des cours d'eau. UMR INRA-ENSA EQHC Rennes & CREUM Phytoécologie Univ. Metz. Agence de l'Eau Artois-Picardie : 101 p. + ann.
- Haury, J., Peltre, M.C., Trémolières, M., Barbe, J., Thiébaut, G., Bernez, I., 2006. A new method to assess water trophy and organic pollution: the Macrophyte Biological Index for Rivers (IBMR): its application to different types of river and pollution, in Macrophytes in Aquatic Ecosystems: From Biology to Management, Dordrecht: *Springer*, 153-158.
- Haury, J., Dutartre, A., Peltre, M.C., 2008. Introduction. Ingénieries EAT 3-5. Special issue.
- Havsteen, B., 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32: 1141-1148.
- Havsteen, B., 2002. The biochemistry and medical significance of flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96: 67-202.
- Haynes, D., Ralph, P., Prange, J., Dennison, B., 2000. The impact of the herbicide Diuron on photosynthesis in three species of tropical seagrass. *Marine Pollution Bulletin.* 41(7-12): 288-293.
- Hernández, N.E., Tereschuk, M.L., Abdala, L.R., 2000. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafí del Valle (Tucumán, Argentina). *Journal of Ethnopharmacology*, 73: 317-322.
- Hornsey, I.S. Hide, D., 1985. The production of antimicrobial compounds by British marine algae. IV. Variation of antimicrobial activity with algal generation. *British Phycological Journal*, 20: 21-25.

# I

- IDEALG PIA 2017. Développer la filière macroalgues. Rapport de l'IDEALG PIA, ANR 2011-2017, Station Biologique de Roscoff, 84p
- Ismail-Ben Ali, A., Ktari, L., Boudabbous, A., El Bour, M., 2010. Seasonal variation of antibacterial activity of the brown alga *Padina pavonica* (L) Thivy collected from northern coast of tunisia. *Institut National des Sciences et Technologies de la Mer Salammbô*, 37: 111-116.

J

- Jégou, C. 2011. Étude du genre Cystoseira des côtes bretonnes : taxinomie, écologie et caractérisation de substances naturelles. Thèse de doctorat, Sciences du Vivant, Université de Bretagne Occidentale, France. 314p.
- Jiao, G., Yu, G., Zhang, J., Ewart, H.S., 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine Drugs*, 9: 196-223.
- Joffin, J.N., Leyral, G., 2006. Microbiologie technique: Dictionnaire des techniques. 1<sup>ere</sup> Edition. Bordeaux, 248p.
- Juncker, T., Schumacher, M., Dicato, M., Diederich, M., 2009. UNBS1450 from *Calotropis procera* as a regulator of signaling pathways involved in proliferation and cell death. *Biochemical Pharmacology*, 78: 1-10.

#### K

- Kadari-Meziane, Y., 1994. Contribution à l'étude de l'impact de la pollution sur la distribution spatio-temporelle des peuplements phytobenthiques dans la Baie de Bou Ismail. Thèse de magistère, ENS Alger, 226p.
- Kanjana, K., Radtanatip, T., Asuvapongpatana, S., Withyachumnarnkul, B., Wongprasert, K., 2011. Solvent extracts of the red seaweed *Gracilaria fisheri* prevent *Vibrio harveyi* infections in the black tiger shrimp *Penaeus monodon. Fish and Shellfish Immunology*, 30(1): 389-396.
- Karumi, Y., Onyeyili, P.A., Ogugbuaja, V.O., 2004. Identification of Active Principales of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract. *Journal Of Medical Sciences*, 4(3): 179-182.
- Keats, D.W., Steele, D.H., South, G.R., 1987. The rôle of fleshy macroalgae in the ecology of juvenile cod (Gadus morhua L.) in inshore waters off eastern New found land. *Canadian Journal of Zoology*, 65: 49-53.
- Khélifi-Touhami, M., Ounissi, M., Saker, I., Haridi, A., Djorfi, S., Abdenour, C., 2006. The hydrology of the Mafrag estuary (Algeria): Transport of inorganic nitrogen and phosphorus to the adjacent coast. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 4: 340-346.
- Kloareg, B., Quatrano, R.S., 1988. Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanography and Marine Biology -Annual Review*, 26: 259-315.

Krief, S., 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzes (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio]. *Museum national d'histoire naturelle*, MNHN PARIS, France, 348p.

L

- Lacaze, J.C., Ramade, F., 1993. La dégradation de l'environnement côtier, conséquences écologique. *Science de l'environnement* 8ème Edition Masson. Paris, 149p.
- Lacaille-Dubois, M.A., Delaude, C., Mitaine- Offer A.C.,2013. Triterpenoid saponins: a focus on Polygalaceae in Handbook of Natural Products, K.G. Ramawat, J.M. Mérillon (Eds.), *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg, 104: 3205-3232.
- Lamouti, S., Rebzani, C., Bachari, N.E.I., 2011. Répartition de deux espèces introduites à caractère invasif dans la région centre de la côte algéroise : *Caulerpa racemosa* et *Oculina patagonica*. In: Actes de la "Conférence Méditerranéenne Côtière et Maritime". Tanger. Morroco, 361-366.
- LCHF, 1976. Extension du port d'Annaba. Etude générale des conditions naturelles dans le Golfe (synthèse finale du LCHF), 50 p.
- Lebras, Q., Ritter, L., Fasquel, D., Lesueur, M., Lucas, S., Gouin, S., 2014. Etude de la consommation des algues alimentaires en France. Programme IDEALG Phase 1. Etude nationale. Les publications du Pôle halieutique AGROCAMPUS OUEST n°35, 72 p.
- Lejeusne, C., Chevaldonné, P., Pergent-Martini, C., Boudouresque, C.F., Pérez, T., 2010. Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted Mediterranean Sea. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(4): 250-260.
- Lesueur, M., Comparini, C., 2015. La filière des algues dans le monde, en Europe, en France. Synthèse de résultats. Cellule études et transfert, AGROCAMPUS OUEST. Synthèse de l'étude de la filière Algues alimentaires réalisée dans le cadre du projet, 4 p.
- Lindequist, U., Schweder, T., 2001. In: Rehm HJ, Reed G (eds) Biotechnology, Special processes. Wiley VCH, 10: 441-484.
- Loic, A., Maud, L., Sylviane, B., Kaas, R., Martial, L., Viard, F., Potin, P., 2012. Emergence d'une filière de culture de macro-algues en Bretagne et problème relatif à une espèce non indigène, le wakame (*Undaria pinnatifida*). DPMA, Ref. PDG/DCB/2012-055, 16p.

- Lopez, A., Rico, M., Rivero, A., de Tangil, M.S., 2011. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry*, 125: 1104-1109.
- Lopez-Lazaro, M., Martin-Cordero, C., Ayuso, M.J., 2000. Two new flavonol glycosides as DNA topoisomerase I poisons. Zeitschrift fur Naturforschung. Section C: *Journal of Biosciences*, 55: 898-902.
- Lotze, H.K., Lenihan, H.S., Bourque, B.J., Bradbury, R.H., Cooke, R.G., 2006. Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science*, 312(5781): 1806-1809.

#### M

- Maguire, J., 2015. An overview of the European algal industry and guide to best practice. NETALGAE. Power Point présentation Seagriculture symposium. Cherbourg.
- Mhadbia, L., Chaiebb, K., Bouraouia, A., Evaluation of antimicrobial activity of organic fractions of six marine algae from Tunisian Mediterranean coasts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1): 534-537.
- Malumba, P., Janas, S., Deroanne, C., Masimango, T., Béra, F., 2011. Structure de l'amidon de maïs et principaux phénomènes impliqués dans sa modification thermique. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 15(2): 315-326.
- Mammeria, A.B., 2006. Eutrophisation en Méditerranée : conditions de l'herbier de posidonie *Posidonia oceanica* dans le golfe d'Annaba. Mémoire de magistère, Université d'Annaba, Algérie, 117p.
- Manilal, A., Sujith, S., Selvin, J., Seghal Kiran, G., Shakir, C., 2009a. In vivo antiviral activity of polysaccharide from the Indian green alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh): potential implication in shrimp disease management. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 1(4): 278-282.
- Manilal, A., Sujith, S., Kiran, G.S., Selvin, J., Shakir, C., Gandhimathi, R., Lipton, A.P., 2009b. Antimicrobial potential and season- ality of red algae collected from southwest coast of India tested against shrimp, human and phytopathogens. *Annals of Microbiology*, 59(2): 207-219.
- Manilal, A., Selvin, J., Sujith, S., Panikkar, M.V.N., 2012. Evaluation of therapeutic efficacy of Indian green alga, *Acrosiphonia orientalis* (J. Agardh) in the treatment of

- vibriosis in *Penaeus monodon*. Thalassas, *International Journal of Marine Science*, 28(1): 33-46.
- Mangialajo, L., Chiantore, M., Cattaneo-Vietti, R., 2008. Loss of fucoid algae along a gradient of urbanisation, and structure of benthic assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 358: 63-74.
- Marfaing, H., Lerat, Y., 2007. Les algues ont-elles une place en nutrition? Phytothérapie, NHS, 2-5. DOI 10.1007/s10298-007-0227-5
- Marshall, R.A., Hamilton, G.T.G., Dring, M.J., Harper, D.B., 2003. Do vesicle cells of the red alga Asparagopsis (Falkenbergia stage) play a role in bromocarbon production? *Chemosphere*, 52: 471-475.
- Martin, M.J., Marhuenda, E., Perez-Guerrero, C., *et al.*, 1994. Antiulcer effect of naringin on gastric lesions induced by ethanol in rats. *Pharmacology* 49(3): 144-50.
- Martini, N.D., Katerere, D.R.P., Eloff, J.N., 2004. Biological activity of five antibacterial flavonoids from Combretum erythrophyllum (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 93: 207-212.
- Masquelier, J., 1958. Sur quelques propriétés biologiques des anthocyanes et des leucoanthocyanes de la vigne (Vitis Vinifera) (Première partie). *Plant Foods for Human Nutrition*, 3: 481.
- Mayer, A.M.S., 2002. Current marine pharmacology contributions to new drug development in the biopharmaceutical industry. *Pharmaceutical News*, 9: 479-482.
- Mayer, A.M.S., Rodríguez, A.D., Roberto, B.G.S., Hamann, M.T., 2009. Marine pharmacology in 2005-2006: Marine compounds with anthelmintic, antibacterial, anticoagulant, antifungal, anti-inflammatory, antimalarial, antiprotozoal, antituberculosis, and antiviral activities; affecting the cardiovascular, immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. *Biochimica Biophysica Acta* (BBA)-General Subjects, 1790: 283-308.
- Mayer-Pinto, M., Junqueira, A.O.R., 2003. Effects of organic pollution on the initial development of fouling communities in a tropical bay, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 46(11):1495-1503.
- Mbaveng, A.T., Ngameni, B., Kuete, V., Konga Simo, I., Ambassa, P., Roy, R., Bezabih, M., Etoa, F.X., Tchaleu Ngadjui, B., Abegaz, B.M., Meyer, J.J.M., Lall, N., Penlap Beng, V., 2008. Antimicrobial activity of the crude extracts and five flavonoids from the twigs of *Dorstenia barteri* (Moraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 483-489.

- McConnell, O., Fenical, W., 1977. Halogen chemistry of the red alga *Asparagopsis*. *Phytochemistry*, 16: 367-374.
- Meinesz, A., Boudouresque, C.F., Falconetti, C., Astier, J.M., Bay, D., Blanc, J.J., Bourcier, M., Cenlli, F., Cirik, S., Cristiani, G., Di Geronimo, I., Giaccone, G., Harmelin, J.G., Laubier, C., Lovric, A.Z., Molinier, R., Soyer, J., Vamvakas, C., 1983. Normalisation des symboles pour la présentation et la cartographie des biocénoses benthique littorals de Méditerranée. *Annales de l'Institut océanographique*, Paris, 59(2): 155-172.
- Mellouk, K., 2007. Etude ethnobotanique et phytochimique d'une plante medicinal *Chrysanthemum fuscatum*. Mémoire de Magister, Université d'Annaba.
- Mellouk, Z., Benammar, I., Krouf, D., Goudjil, M., Okbi, M., Malaisse, W., 2017. Antioxidant properties of the red alga *Asparagopsis taxiformis* collected on the North West Algerian coast. *Experimental and therapeutic medicine*, 3(6): 3281-3290.
- Melville, F., Pulkownik, A., 2007. Investigation of mangrove macroalgae as biomonitors of estuarine metal contamination. *Science of The Total environment*, 287 (1-3): 301-309.
- Mesnildrey, L., Lesueur, M., Frangoudes, K., Jacob, C., Spinec, F., Folliard, G., Pien, S., Rebours, C., Meland, M., Gallastegi, I., Inunziaga Urizarbarrena, A., Marques, A., Atack, T., Dunningham, J., Maguire, J., Abreu, H., Walsh, M., 2012. Présentation de la filière des macro-algues par pays: Norvège, France, Royaume-Uni, Espagne, Irlande, Portugal. Rapport d'étude. NETALGAE-*Interreg* IVb. 8 p.
- Meyer, J.J., Afolayan, A.J., Taylor, M.B., Erasmus, D., 1997. Antiviral activity of galangin isolated from the aerial parts of *Helichrysum aureonitens*. *Journal of Ethnopharmacology*, 56: 165-169.
- Meyer-Reil, L.A., Köster, M., 2000. Eutrophication of marine waters: effects on benthic microbial communities. *Marine Pollution Bulletin*. 41(1–6):255–263.
- Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T.C., 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews*, 52: 673-751.
- Molinier, R., Picard, J., 1952. Recherches sur les herbiers de Phanérogames marines du littoral méditerranéen français. *Annales de l'Institut océanographique*, Paris, 27(3): 157-234.
- Molinier, R., 1960. Etude des biocénoses marines du Cap Corse. Végétatio, 9(3-5): 121-312.
- Montagne, C., 1838. Cryptogames algériennes ou plantes recueillies par M. Rousselaux environs d'Alger. *Bull. Stat. Aquicult. Pêche Castiglione*, Alger, 4: 335-362.

- Montagne, C., 1846a. Voyage autour du monde exécuté pendant les années 1836 et 1837 sur la corvette 'La Bonite' commandée par M. Vaillant, capitaine du Vaisseau. Publié par ordre du Roy. Botanique. Tome. 1: Cryptogames cellulaires et vasculaires, Arthus Bertrand Editeur, Paris, 372p.
- Montagne, C., 1846b. Pheophyceae. In Gaudichaud, C. (ed.). Voyage autour du monde exécuté pendant les années 1836 et 1837 sur la corvette 'La Bonite' commandée par M. Vaillant. Botanique. Vol. 1: Cryptogames cellulaires et vasculaires, Paris, 112 p.
- Montagne, C., 1856. Sylloge generum specirumque Cryptogamarum quos in variis operibus descriptas iconibusque illustrats, nunc ad reductas nunnullasque novas interjectas, ordine systemateco disposuit. *J. B. Baillière* Edit., Paris : 498 p.
- Montesanto, B., Panayotidis, P., 2000. The *Cystoseira* spp. communities from the upper Aegean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 80: 357-358.
- Moreau, J., Pesando, D., Caram, B., 1984. Antifungal and antibacterial screening of Dictyotales from the French Mediterranean coast. *Hydrobiologia*, 166(117): 521-524.
- Murata, M., Nakazoe, J.I., (2001) Production and use of marine algae in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 35(4): 281-290.
- Murray, S.N., Littler, M.M., 1978. Patterns of algal succession in a perturbated marine intertidal community. *Journal of Phycology*, 14: 506-512.

#### N

Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M., 2003. Natural products as source of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, 66: 1022-1037.

#### 0

- Ollivier, G., 1929. Etude de la flore marine de la Côte d'Azur. *Annales de l'Institut Océanographique de Paris*, 7(3): 53-173.
- Omezzine, F., Haouala, R., El Ayeb, A., Boughanmi, N., 2009. Allelopathic and antifungal potentialities of Padina pavonica (L.) extract. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(4): 094-203.
- Orfanidis, S., Panayotidis, P., Stamatis, N., 2001. Ecological evaluation of transitional and coastal waters: A marine benthic macrophytes-based model. *Mediterranean Marine Science*, 2(2): 45-65.

- Orfanidis, S., Panayotidis, P., Stamatis, N., 2003. An insight to the ecological evaluation index (EEI). *Ecological Indicators*, 3: 27-33.
- Orfanidis, S., Reizopoulou, S., Basset, A., 2008a. Transitional states in transitional waters (editorial). Aquatic Conservation: *Marine and Freshwater Ecosystems*, 18: S1-S3.
- Orfanidis, S., Pinna, M., Sabetta, L., Stamatis, N., Nakou, K., 2008b. Variation of structural and functional metrics in macrophyte communities within two habitats of eastern Mediterranean coastal lagoons: natural vs. Anthropogenic effects. Aquatic Conservation: *Marine and Freshwater Ecosystems*, 18: S45-S61.
- Orfanidis, S., Panayotidis, P., Ugland, K.I., 2011. Ecological Evaluation Index continuous formula (EEI-c) application: a step forward functional groups, the formula and reference condition values. *Mediterranean Marine Science*. 12(1): 199-231.
- Ould-Ahmed, N., 1994. Etude des espèces phytobenthiques au voisinage de la centrale thermique de Mers El Hadjdj (Golfe d'Arziew; Ouest algérien). Mention particulier sur une espèce remarquable Chlorophyte, Caulerpale: *Caulerpa prolifera* (Forsskal) Lamouroux. Magister ISMAL, 178 p. + annexes.
- Ould-Ahmed, N., Meinesz, A., 2007. First record of the invasive alga *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) on the coast of Algeria. *Cryptogamie, Algologie*, 28: 303-305.
- Ould-Ahmed, N., Gómez Garreta, A., Ribera Siguan, M.A., Bouguedoura, N., 2013. Checklist of the benthic marine macroalgae from Algeria. I. Phaeophyceae. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 70: 136-143.
- Ounissi, M., Frehi, H., Khelifi-Touhami, M., 1998. Composition et abondance du zooplancton en situation d'eutrophisation dans un secteur côtier du Golfe d'Annaba (Algérie). *Annales de l'Institut Océanographique de Paris*, 74(1): 13-28.
- Ounissi, M., Frehi, H., 1999. Variabilité du microphytoplancton et des Tintinnidae (Protozoaires Ciliés) d'un secteur eutrophe du Golfe d'Annaba (Méditerranée Sud Occidentale). *Cahiers Biologie Marine*, 40: 141-153.
- Ounissi, M., Khaled-Khodja, M., Khelifi-Touhami, M., Hallal, S., Ayada, M., 2002. Flux de matières minérales et organiques de l'oued Seybouse au littoral d'Annaba(Algérie) en hiver et au printemps 2002. Cinquièmes Journées Tunisiennes des Sciences de la Mer, ATS Mer, Aïn-Draham, Tunisie, 21-24 décembre 2002.

- Ounissi, M., Khammar, H., Ziouch, O., Saker, I., Haridi, A., Khelifi-Touhami, M., Abdenour, C., 2008. Apports d'azote et de phosphate au littoral d'Annaba par les effluents urbains, industriels et par la rivière Seybouse (Algérie). In: Chouikhi, A., Zibdah, A., Khalaf, A. (Eds.), rapid urbanisation and land use conflicts in coastal cities. International conference INOC 13. Izmir. Turkey, 181-186.
- Ounissi, M., Ziouch, O.R., Aounallah, O., 2014. Variability of the dissolved nutrient (N, P, Si) concentrations in the bay of Annaba in relation to the inputs of the Seybouse and Mafragh estuaries. *Marine. Pollution Bulletin*, 80: 234-244.

#### P

- Padmakumar, K., Ayyakkannu, K., 1997. Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from southern coast of India. *Botanica Marina*, 40: 507-515.
- Paillard, C., Le Roux, F., Borrego, J.J., 2004. Bacterial disease in marine bivalves, a review of recent studies: trends and evolution. *Aquatic Living Resources*, 17: 477-498.
- Panayotidis, P., Montesanto, B., Orfanidis, S., 2004. Use of low-budget monitoring of macroalgae to implement the European Water Framework Directive. *Journal of Applied Phycology*, 16: 49-59.
- Paris, R.R., Moyse, H., 1976. Matière Médicale. Tome I. 2eme Ed: Masson, Paris. 406 p.
- Paul, N.A., de Nys, R., Steinberg, P.D., 2006. Chemical defence against bacteria in the red alga *Asparagopsis armata*: linking structure with function. *Marine Ecology Progress Series*, 306: 87-101.
- Perret-Boudouresque, M., Seridi, H., 1989. Inventaire des algues marines benthique d'Algérie. *GIS, Posidonie publication*, Marseille, France, 117 p.
- Pergent, G., 1991. Les indicateurs écologiques de la qualité du milieu marin en Méditerranée. *Océanis*, 17: 341-350.
- Pergent, G., Semroud, R., Baba Ahmed, R., Derbal, F., Khatal, Y., Remili, A., Robert, P., Boudouresque, C.F., 1993. Données préliminaires sur la répartition et l'état de l'herbier à *Posidonia oceanica* de la région d'El-Kala. *Scientific Reports of Port-Cros national Park*, France, 15: 253-563.

- Pergent, G., Leonardi, R., Lopez, Y., Royo, C., Mimault, B., Pergent-Martini, C., 2008. Mise en œuvre d'un Réseau de Surveillance Posidonies le long du littoral de la Corse. Rapport de synthèse. Contrat Office de l'Environnement de la Corse et GIS Posidonie Centre de Corse, *GIS Posidonie Publication*, Corte: 273p.
- Pesando, D., 1990. Antibacterial and antifungal activities of marine algae. In: (I. Akatsuka, ed.) Introduction to applied phycology. SPB Academic Publishing by, The Hague. 3-27.
- Pithois-Mille, D., 2007. Préfiguration d'un Réseau de Surveillance Posidonie «nouvelle génération» en région Provence-Alpes-Côte d'Azur, Rapport de fin d'étude. Centre d'Océanologie de Marseille et Ifremer, la Seyne sur Mer, France, 41p.
- Plouguerne, E., Le Lann, K., Connan, S., Jechoux, G., Deslandes, E., Stiger-Pouvreau V., 2006. Spatial and seasonal variation in density, reproductive status, length and phenolic content of the invasive brown macroalga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt along the coast of Western Brittany (France). *Aquatic Botany*, 85(4): 337-346.
- Porzio, L., Buia, M.C., Hall-Spencer, J.M., 2011. Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 400: 278-287.
- Pratt, R., Mautner, H., Gardner, G.M., Sha, Y.H., Dufrenoy, J., 1951. Report on antibiotic activity of seaweed extracts. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 40: 575-579.

# R

- Rabalais, N.N., Turner, R.E., Diaz, R.J., Justic, D., 2009. Global change and eutrophication of coastal waters. ICES, *Journal of Marine Science*, 66: 1528-1537.
- Rath, J., Adhikary, S.P., 2007. Bioprospecting of marine Algae. In: Gupta, R.K., Pandey, V.D. (Eds.), *Advances in Applied Phycology*. Daya Publishing House, New Delhi, 300p.
- Rejsek, F., 2002. Analyse des eaux: aspects réglementaires et techniques. Collection: biologie technique. *Edition Canopé CRDP de Bordeaux*. France, 360p.
- Riadi, H., Kazzaz, M., Ater, M., 2000. Contribution à la connaissance des algues marines benthiques du detroit de gibraltar et de la Mediterranée occidentale marocaine chlorophyceae et phaeophyceae. *Acta Botanica Malacitana*, 25: 5-20.

- Richmond, M.D., Seed, R., 1991. A review of marine macro-fouling communities with special reference to animal fouling. *Biofouling*, 3(2):151-168.
- Rodier, J., Geoffray, C., Kovacsik, G., Laporte, G., Plissier, M., Scheidhauer, J., Verneaux, J., Vial, J., Rodi, L., 1978. L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer: chimie, physicochimie, bactériologie, biologie. 6ème Edition Dunod. Paris, 1135p.
- Ruiz, G., 2005. Extraction, Détermination Structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïde d'Algues Rouges Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Limoges: Chimie appliquée Chimie des Substances Naturelles, France, 256 p.

 $\mathbf{S}$ 

- Saidin, Z.H., Tajuddin, R.M., Kamarun, D., Rahman, N.A., 2014. Performance of aquatic macrophytes on removal and accumulation of sulfate and potassium from domestic wastewater. In: Proceedings of the International Civil and Infrastructure Engineering Conference 2013, Singapore, *Springer*, 769-781.
- Salvador, N., Garreta, A. G., Lavelli L., Ribera, M.A., 2007. Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*, 71(1): 101-113.
- Sauvageau, C., 1912. A propos des Cystoseira de Banyuls et de Guethary. *Bulletin de La Station Biologique d'Arcachon*, 14: 42 p.
- Sawa, T., Nakao, M., Akaike, T., Ono, K., Maeda, H., 1999. Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds: implications for the anti-tumour promoter effect of vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 397-402.
- Schramm, W., 1999. Factors influencing seaweed responses to eutrophication: some results from EU-project EUMAC. *Journal of Applied Phycology*, 11(1): 69-78.
- Selka, F.Z., 2015. Contribution à l'évaluation de la pollution marine par les métaux lourds chez les algues de la baie de Honaine, Mémoire de master, Université de Tlemcen, Algérie, 53p.
- Sellam, L.N., 2018. Caractérisation des peuplements du genre *Cystoseira* des côtes algériennes. Thèse de doctorat 3<sup>ème</sup> cycle LMD en Sciences de la Nature et de la Vie Spécialité : Ecosystèmes marins: Modélisation et applications, Université des Sciences et Techniques Houari Boumediene, Alger, 236 p.
- Selway, J.W., 1986. Antiviral activity of flavones and flavans. *Progress in Clinical and Biological Research*, 213: 521-536.

- Semroud, R., 1993. Contribution à la connaissance de l'écosystème à Posidonia oceanica (L.) Delile dans la région d'Alger (Algérie): étude de quelques compartiments. Thèse de Doctorat d'Etat, Université des Sciences et Techniques Houari Boumediene, Alger.
- Semroud, R., 1996. Contribution à la connaissance de l'écosystème à *Posidonia oceanica* (L.) Delile dans la région d'Alger (Algérie): étude de quelques compartiments. In : Rapports finaux des projets de recherche sur les effets (domaine de recherche III). Effets de la pollution sur les communautés marines. *MAP Technical Reports*, 97: 23-50.
- Seridi, H., 1990. Etude des algues marines benthiques de la région d'Alger. Thèse de magister en sciences de la nature. ISN, USTHB, Alger, 235p.
- Seridi, H., 2007. Etude de la flore algale de l'Algérie. Etude phytosociologique des peuplements algaux photophiles de l'infralittoral superficiel de substrat dur. Thèse de Doctorat d'état en sciences biologique, océanographie, 173 p.
- Seridi, H., Ruitton, S., Boudouresque, C.F., 2007. Is it possible to calibrate the pollution level of the region of Algiers (Mediterranean sea) by exploiting marine macrophytes? *Comptes Rendus Biologies*, 330: 606- 614.
- Seridi, H., Kabrane, K., 2010. Progression de *Caulerpa racemosa* (Caulerpales, Chlorophyta) sur le littoral algérien. In: 4<sup>th</sup> Mediterranean Symposium on Marine Vegetation (H.L.S. El Asmi & W. Belgacem eds), 125-128. RAC/SPA (Regional Activity Centre for Specially Protected Areas): Yasmine-Hammamet, Tunis.
- Seurat, L.G., 1927. L'étage intertidal des côtes algériennes. *Bull. Trav. Stat. Aquicult*. Pêche. Castiglione. Alg. 1: 9-33.
- Seurat, L.G., 1933. Etage intertidal côtes algériennes. *Bull. Trav. Stat. Aquicult*. Pêche. Castiglione. Alg. 2: 11-47.
- Sivakumar, S.M., Safhi, M.M., 2013. Isolation and screening of bioactive principle from *Chaetomorpha antennina* against certain bacterial strains. *Saoudi pharmaceutical journal*, 21: 119-121.
- Solfo, R.R., 1973. Etude d'une Plante Médicinale Malgache Buxus madagascarica Bail et ses variétés. Ed : O.R.S.T.O.M.
- Solorzano, L., 1969. Determination of ammonia in natural water by the phenol-hypochlorite method. *Limnology and Oceanography*, 14: 799 801.
- Soltan, D., Verlaque, M., Boudouresque, C.F., Francour, P., 2001. Changes in macroalgal communities in the vicinity of Mediterranean sewage outfall after the setting up of a treatment plant. *Marine Pollution Bulletin*, 42(1): 59-70.

- Smith, D.B., Cook, W.H., 1953. Fractionation of carrageenin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 45: 232.
- Strömgren, T., 1980. Combined effects of copper, zinc and mercury on the increase in length of *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 48: 225-231.

#### T

- Takahashi, T., Kokubo, R., Sakaino, M., 2004. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculata. *Letters in Applied Microbiology*, 39(1): 60-64.
- Tebbal, A., 2011. Composition chimique et minérale de quatre algues benthiques de la région de Kouali (Tipaza). Mémoire de magister. ENSSMAL, Alger.
- Thiébaut, G., Muller, S., 1999. A macrophyte communities sequence as an indicator of eutrophication and acidification levels in weakly mineralised streams in North-Eastern France. *Hydrobiologia*, 410: 17-24.
- Thibaut, T., Pinedo, S., Torras, X., Ballesteros, E., 2005. Long term decline of the Fucales (*Cystoseira* spp. and *Sargassum* spp.) in the Albères coast (France, Northwestern Mediterranean). *Marine pollution bullertin*, 50: 1472-1489.
- Thibaut, T., Blanfune, A., Boudouresque, C.F., Verlaque, M., 2015. Decline and local extinction of Fucales in the French Riviera: the harbinger of future extinctions? *Mediterranean Marine Science*, 16(1): 206-224.
- Tüney, Ü., Çadirci, B.H., Ünal, D., Sukatar, A., 2006. Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (Üzmir, Turkey). *Turkish Journal of Biology*, 30: 171-175.

# V

- Verlaque, M., 1987. Contribution a l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermophile marin en Méditerranée occidentale. Etude structurale et dynamique du phytobenthos et analyse des relations faune-flore. Thèse d'Etat Sciences, Université Aix Marseille II, France.
- Verlaque, M., 1994. Inventaire des plantes marines introduites en Méditerranée: origines et répercussions sur l'environnement et les activités humaines. *Oceanologica Acta*, 17: 1-23.

- Verlaque, M., Seridi H., 1991. *Antithamnion algeriensis* nov. sp. (Ceramiaceae, Rhodophyta) from Algeria (Mediterranean Sea). *Botanica Marina*, 34: 153-160.
- Verlaque, M., 2001. Checklist of the macroalgae of Thau Lagoon (Herault, France), a hot spot of marine species introduction in Europe. *Oceanologica Acta*, 24(1): 29-49.
- Vermeerch, M., Foubert, K., Da Luz, R.I., Puyvelde, L.V., Pieters, L., Cos, P., Maes, L., 2009. Selective antileishmania activity of 13,28-epoxyoleanane and related triterpene saponins from the plant families Myrsinaceae, Primulaceae, Aceraceae and Icacinaceae. *Phytotherapy research*, 23: 1404-1410.
- Vidayavathi, N., Sridhar, K., 1991. Seasonal and geographical variations in the antimicrobial activity of seaweeds from the Mangalore coast of India. *Botanica Marina*, 34: 279-284.
- Villar, A., Gasco, M.A., Alcaraz, M.J., 1987. Some aspects of the inhibitory activity of hypolaetin-8-glucoside in acute inflammation. *The Journal of pharmacy and pharmacology* 39(7): 502-507.
- Vlachos, V., Critchley, A.T., von Holy, A., 1997. Antimicrobial activity of extracts from selected Southern African marine macroalgae. *South African Journal of Science*, 93: 328-332.

## W

- Woolard, F.X., Moore, R.E., Roller, P.P., 1979. Halogenated acetic and acrylic acids from the red alga *Asparagopsis taxiformis*. *Phytochemistry*, 18: 617-620.
- Wolk, C.P., 1968. Role of bromine in the formation of the refractile inclusions of the vesicale cells of the Bonnemaisoniaceae (Rhodophyta). *Planta*, 78: 371-375.
- Womersley, H.B.S., 1998. The Marine Benthic Flora of Southern Australia. Part IIIC. State Herbarium of Southern Australia, Adelaide.

#### Y

- Yamada, H., 1991. Natural products of commercial potential as medicines. *Current Opinion in Biotechnology*, 2: 203-210.
- Young, D.N., 1977. Comparative Fine Structure and Histochemistry of Vesiculate Cells in Selected Red Algae. University of California, Berkeley.
- Yuan, V.Y., Walsh, N.A., 2006. Antioxydant and proliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1144-1150.

# $\mathbf{Z}$

- Zellal, A., 2012. Croissance et développement d'une Rhodophyte Agarophyte *Gelidium* sesquipedale de la côte de Mostaganem (Ouest, Algérie). Etude préliminaire. Mémoire de magistère, Université d'Oran, Algérie, 36 p.
- Zheng, W.F., Tan, R.X., Yang, L., Liu, Z.L., 1996. Two flavones from *Artemisia giraldii* and their antimicrobial activity. *Planta Medica*, 62:160-162.
- Ziouch, O.R., 2014. Nutrient distribution in the bay of Annaba under the influence of the Seybouse and the Mafragh estuaries inputs (Southwestern Mediterranean). Thèse de doctorat. Option: environnement littoral. Université de Badji Mokhtar. Annaba. Algérie. 117p. Disponible sur : http://biblio.univ-annaba.dz.
- Zitouni, H., Arhab, R., Boudry, C., Bousseboua, H., Beckers, Y., 2014. Chemical and biological evaluation of the nutritive value of Algerian green seaweed *Ulva lactuca* using in vitro gas production technique for ruminant animals. *International Journal of Advanced Research*, 2(4): 916-925.
- Zitouni, H., 2015. Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires. Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri, Constantine, Algérie, 142p. + annexes.

#### WEBOGRAPHIE

LAMARE Véronique, VERLAQUE Marc *in:* DORIS, 02/02/2017: *Asparagopsis taxiformis* (Delile) Trevisan de Saint-Léon, http://doris.ffessm.fr/ref/specie/2074

LAMARE Véronique, WACQUANT Claude, VERLAQUE Marc *in:* DORIS, 16/01/2017: *Halopteris scoparia* (Linnaeus) Sauvageau, http://doris.ffessm.fr/ref/specie/1590

LAMARE Véronique, VERLAQUE Marc in: DORIS, 14/11/2016: Cladostephus spongiosum (Hudson) C. Agardh, http://doris.ffessm.fr/ref/specie/3549

http://www.fao.org/fishery/docs/STAT/summary/a-5.pdf

# **Annexes**

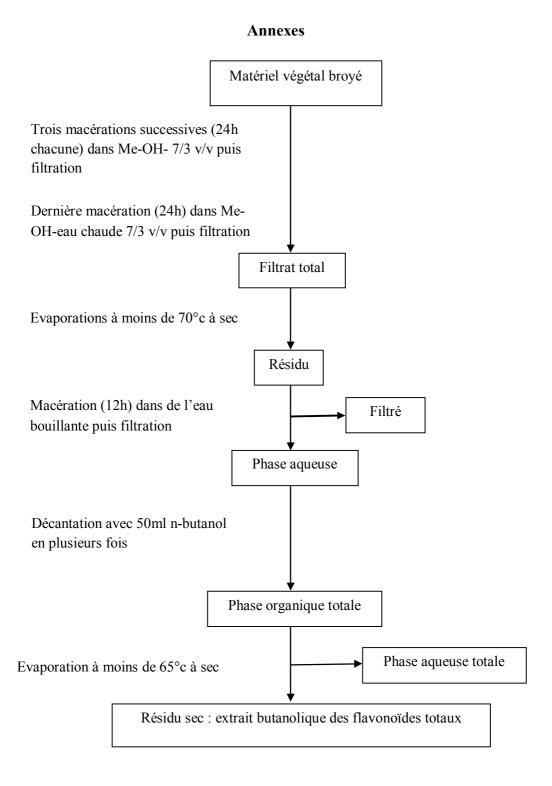


Figure 33. Protocole expérimental de l'extraction des flavonoïdes totaux selon Harborne (1975).

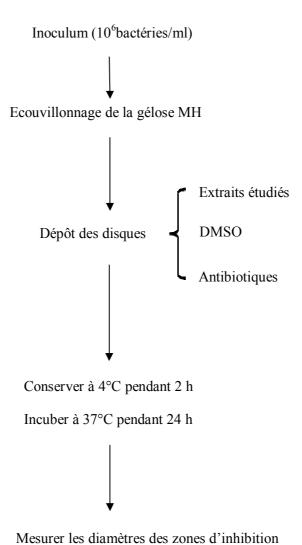
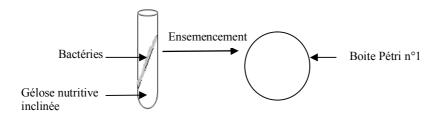


Figure 34. Méthode de diffusion en milieu gélosé.

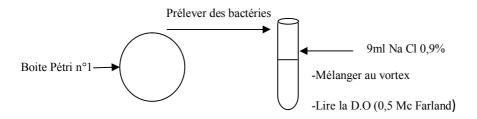
# Jour 1:

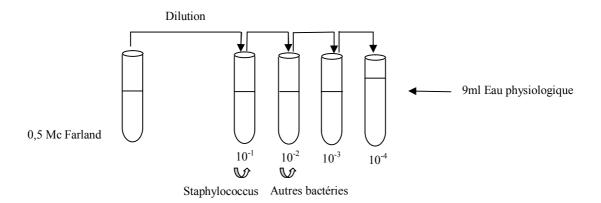
## Préparation de l'inoculum



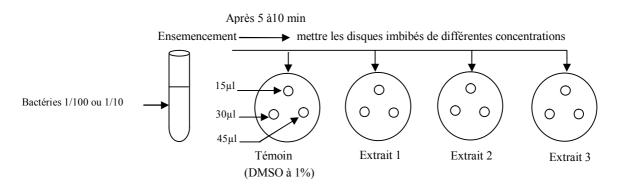
o Incubation de la boite n°1

## Jour 2:





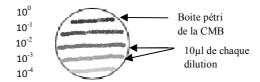
# Antibiogramme



o Incubation des boites Pétri à 37°C pendant 24 h

## > Préparer la boite référence de la CMB

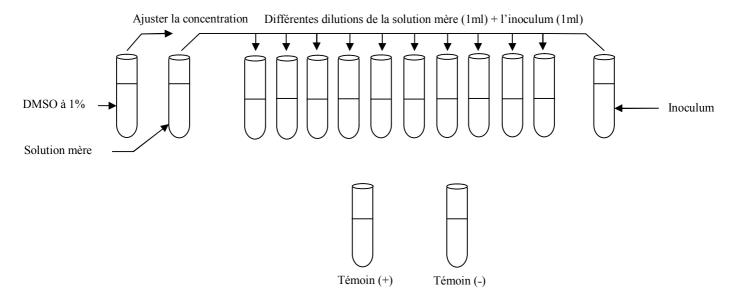
- Ensemencement d'une boite pour la CMB à partir des dilutions 10<sup>0</sup>, 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>
- O Faire des stries de 5 cm avec 10 μl pour chaque dilution



o Incubation de la boite Pétri à 37°C

## > Effectuer la CMI

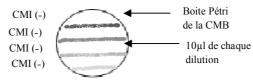
- o Préparer les dilutions de la solution mère
- o Préparer l'inoculum dans le MH liquide avec une turbidité de 0,5 Mc Farland
- o Préparer les dilutions de 1/00 ou 1/10
- o Préparer un témoin positif et un témoin négatif



o Incuber tous les tubes à 37°C pendant 24h

## Jour 3:

- o Lecture de l'antibiogramme
- o Lecture de la CMI
- $\circ\quad$  Ensemencement des tubes de la CMI pour la CMB



Incubation à 37°C pendant 24

## Jour 4:

o Lecture de la CMB

Figure 35. Protocole de la réalisation de l'activité antibactérienne

## Chlorophyceae



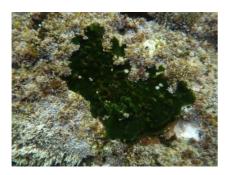
#### Acetabularia acetabulum (Linnaeus) P.C. Silva 1952

Thalle érigé sous forme de petite ombrelle, constitué d'une seule tige cylindrique de 1 mm de diamètre et de 6 cm de hauteur, simple, ferme mais non rigide, sur laquelle se forment distalement des verticilles successives de filaments hyalins ramifiés caduques, sur la partie apicale un disque terminal, plat ou légèrement concave, de 5-12 mm de diamètre, composé de 55-90 rayons reliés latéralement et présentant sur la face supérieure et inférieure de la région centrale une paire d'anneaux soudés (couronne supérieure et inférieure). Thalle légèrement calcifié, vert pâle ou blanchâtre, et fixé au substrat par une base rhizoïdale ramifiée. Les verticilles des filaments hyalins laissent des cicatrices en tombant qui sont observables sur le vieux thalle. Structure sifonale. Croissance apicale. Chloroplastes abondants, discoïdes et sans pyrénoïdes.



### Caulerpa cylindracea Sonder 1845

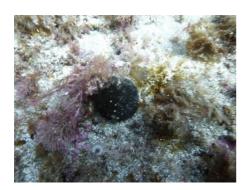
Thalle érigé, constitués par des axes cylindriques atteignant 15 cm de hauteur et 1-2 mm de diamètre, vert vif, pourvus de plusieurs ramifications latérales courtes, claviformes à subsphériques, 3-5 x 2-3 mm, disposés de façon distique ou radiale, le long des axes dressés. Le thalle dressé part d'un système stolonifère basal pourvu de rhizoïdes ramifiés et incolores qui fixent le thalle au substrat. Structure du sifonal. Croissance apicale. La stabilité structurale du thalle par les trabécules. Chloroplastes nombreux, discoïdes, dépourvus de pyrénoïdes. Il présente également des amyloplastes.



## Codium adhaerens C. Agardh 1822

Thalle encroutant, aplati, formant de large plaques de morphologie irrégulière, solidement fixées à la roche par des rhizoïdes lisses ou avec de légères crêtes, jusqu'à 10 cm de diamètre et 0-5 cm d'épaisseur, vert foncé, texture spongieuse, légèrement gélatineux et surface veloutée. Structure siphonale. Croissance marginale. Médulle constituée de siphons allongés, incolores et entrelacés, entourés d'un cortex constitué de nombreux prolongements gonflés des siphons (utricules), pigmentés, disposés très rapprochés et perpendiculaires à la surface. Utricules difficiles à dissocier, cylindriques ou claviformes, courts, de 500-700 m de longueur et de 60-95 m de largeur dans les zones médianes des croûtes, avec des apex arrondis et

un épais épaississement apical des lamelles. Chloroplastes nombreux, discoïdes et dépourvus de pyrénoïdes.



## Codium bursa (Linnaeus) C. Agardh 1817

Thalle globuleux, grands, mous et creux. Jusqu'à 40 cm de diamètre, vert foncé, texture spongieuse et surface veloutée, fixés au substrat par des rhizoïdes entrelacés. Structure siphonale.

Croissance marginale. La médulle est constituée de siphons allongés, incolores et entrelacés, entourés d'un cortex de nombreux prolongements gonflés des siphons (utricules), pigmentés, disposés très proches les uns des autres et perpendiculaires à la surface. Utricules très grand, claviforme, jusqu'à 4500 m de long et 250-550 m de diamètre, avec des apex arrondis légèrement épaissis et nombreux chloroplastes, discoïdes et dépourvus de pyrénoïdes.



## Codium vermilara (Olivi) Delle Chiaje 1829

Thalle dressé, constitué d'un axe cylindrique avec ramifications subdichotomiques irrégulières atteignant 25 cm de haut et 4 mm de diamètre, vert foncé, texture spongieuse et surface veloutée, fixés au substrat par un disque basal. Structure siphonale. Croissance apicale par de nombreux siphons, entrelacés, entourés d'un cortex de nombreuses projections gonflées des siphons (utricules), pigmentés, disposés très proches les uns des autres et perpendiculaires à la surface. Utricules claviformes à piriformes, de 400-700 m de longueur et de 100-250 m de diamètre, avec des apex obtus et des poils caduques dans la partie distale. Chloroplastes nombreux, discoïdes et dépourvus de pyrénoïdes.



# Dasycladus vermicularis (Scopoli) Krasser in Beck & Zahlbruckner 1898

Thalle dressés d'aspect vermiforme, de 2-7 cm de haut et de 3-8 mm de diamètre, spongieux, vert foncé, et constitués d'un seul axe central cylindrique portant sur toute sa longueur des petits rameaux latéraux courts et verticillés. Chaque verticille étant constituée de 8-12 segments primaires cylindriques, portant chacun 3 à 4 segments secondaires, eux-mêmes terminés par 3 à 4 segments courts et pointus. Tous les segments sont interconnectés entre eux par de larges pores. Le thalle est fixé au substrat par des rhizoïdes. Structure siphonale. Croissance apicale. Chloroplastes abondants, discoïdes et sans pyrénoïdes



### Flabellia petiolata (Turra) Nizamuddin 1987

Thalle érigé, en forme d'eventail, fixée sur le substrat par un pédoncule. En général de petite taille, peut atteindre 10 cm de hauteur, de couleur vert foncé présente des lignes concentriques plus claires ont une marge apicale plus ou moins déchirée. Structure siphonale. Croissance marginale.

Chloroplastes nombreux discoïdes avec ou sans pyrénoides. Ils présentent également des amyloplastes.



## Halimeda tuna (J. Ellis & Solander) J.V. Lamouroux 1816

Thalle érigé, plusieurs axes subdichotomique divisés, jusqu'à 20 cm de hauteur, en segments successifs aplatis légèrement calcifiée, discoïde à cunéiforme, jusqu'à 22 mm de largeur et 1 mm d'épaisseur, disposées dans un plan, articulés les uns aux autres par des joints souples non calcifiés. De couleur vert clair. Le thalle est fixé au substrat par des rhizoïdes. Structure siphonale. Croissance apicale par de nombreux siphons. La médulle des siphons se ramifie dans la région corticale en 3 couches d'utricules périphériques superposés, où se dépose le carbonate de calcium dans les espaces interstitiels. En vision superficielle, utricules polygonaux, de 35-100 m de diamètre et soudés ensemble. Chloroplastes nombreux, discoïdes, avec ou sans pyrénoïdes. Ils présentent également des amyloplastes.



## Valonia utricularis (Roth) C. Agardh 1823

Thalle constitué par des groupes de nombreuses cellules géantes (vésicules) de couleur vert foncé, brillante, turgescente, constituant des groupes pouvant dépasser 20 cm en extension, et fixées au substrat par des petits rhizoïdes. Structure siphonale.

Croissance apicale. Cellules oblongues, piriformes ou claviformes, de taille irrégulière, de 3-20 mm de longueur et de 1-5 mm de largeur, ramifications apicales et latérale. Chaque cellule est pourvue d'une grande vacuole centrale et d'un chloroplaste pariétal réticulé avec de nombreux pyrénoïdes.

#### Rhodophyceae



### Amphiroa rigida J.V. Lamouroux 1816

Thalle érigé, rigide, partiellement calcifiée, géniculée, dans laquelle les génicules (non calcifiés) alternent avec les intergenicules (calcifiés). Thalle de 2-5 cm de haut, de couleur violet à blanc, formé par des axes avec ramification dichotomique, régulière ou irrégulière, souvent avec des angles droits, intergenicules cylindrique, 2,5-4,5 mm de longueur et 0,4-0,6 mm de largeur, et cannelé. Structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. Croissance apicale par la couche terminale des cellules médullaires. En coupe longitudinale, intergenicules composés d'une médulle dans laquelle 1-2 strates de cellules étroites et longues alternent séparées par une couche de cellules plus courtes, et par un cortex de cellules angulées. Génicules formés de 2 strates de très longues cellules médullaires et de cellules corticales irrégulièrement disposées.



## Amphiroa beauvoisii J.V. Lamouroux 1816

Thalle érigé, rigide, partiellement calcifié, géniculé, avec génicule (non calcifié) alternant avec intergenicule (calcifiées), thalles 2-5 cm de hauteur, violet ou rose blanchâtre, ramifié en dichotome ou irrégulier, rarement trichotome, habituellement pas au niveau des genicules. intergenicules jusqu'à 10 mm de long subcylindrique dans les parties inférieures (0,5-1,0 mm de large), mais de manière caractéristique jusqu'à 2 mm de large, striés dans la région distale. Structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. Croissance apicale par la couche terminale des cellules médullaires. Coupe d'intergenicule longitudinale constituée par un noyau formé par la succession des couches 2,3,4 arquée cellules allongées et étroites, séparées par une couche de cellules plus courtes, et une cellules du cortex angulaire. Génicules constitués de 2-5 couches de cellules médullaires et de cellules corticales irrégulièrement disposées.



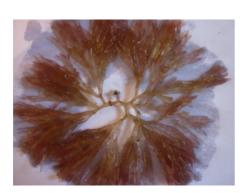
## Asparagopsis taxiformis (Delile) Trévisan 1845

Thalle gamétophyte formant de grands buissons jusqu'à 30 cm de hauteur, brun rougeâtre constitués par des axes prostrés stolonifères à partir desquels des axes dressés jusqu'à 2 mm de large, recouverts de rameaux qui sont plus denses vers l'apex, de 1 à 2 cm de longueur, disposées radialement.

Les rameaux, garnis de fins filaments (ou ramules), forment de petites touffes coniques (ou pyramidales) dans la partie supérieure de l'algue.

A la base du thalle, des stolons plus ou moins ramifiés contribuent à sa fixation sur la roche. Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale. Croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise

transversalement. Axes principaux avec de très longues cellules axiales gonflées aux extrémités entourées par 2 cellules périaxiales et un cortex multistratifié séparé de l'axe, dans lequel les cellules à l'iode proviennent de la transformation des cellules corticales. Sporophytes (phase « Falkenbergia hillebrandii » (Bornet) Falkenberg 1901) filiforme, indiscernable de ceux d'*A armata*, à structure pseudoparenchymateuse polysifonée uniaxiale, avec un axe central entouré de 3 cellules péri-axiales, et des cellules sécrétoires situées sur la face interne de chaque péri-axial.



### Bornetia secundiflora (J.Agardh) Thuert 1855

Thalle filamenteux, érigé, rassemblés en groupes, atteignant 15 cm de haut de couleur rose rouge. axes avec des cellules sub-cylindriques jusqu'à 1 mm de diamètre dans la partie basale et 300-400 m dans la partie apicale, 2-4 fois plus long que large, ramifications sous forme subdichotome ou unilatérale, plus dense dans la partie terminale, avec des ramifications originaires, près du sommet des cellules avec des angles de ramification très aigus. Fixation au substrat par des rhizoïdes. Structure filamenteuse. La croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise obliquement.



# Bonnemaisonia asparagoides (Woodward) C.Agardh1822

Thalle gamétophyte constitués par des axes cylindriques dressés ou légèrement comprimés, de couleur brun rougeâtre, jusqu'à 12 cm de longueur et 1 mm de largeur, et fixés par un petit disque. Ramification sympodiale, avec des axes portant des ramifications épineuses jusqu'à 2mm de long disposées sous forme alternative et distique.

Structure pseudoparenchymateuse.

Croissance uniaxiale à partir d'une seule cellule apicale divisée transversalement. cellules axiales très longues, allant jusqu'à 730-960 m, portant une paire de cellules periaxiales opposées et un cortex multistratifié, séparé des axes, avec des cellules hyalines internes, grandes et sphériques, et de petites cellules externes pigmentées. Cellules d'iode abondantes, formées par la transformation d'une cellule corticale. Sporophytes scabulaires et discoïdes, de 2 à 4 mm de diamètre (phase Hymenoclonium Batters 1895).



### Ceramium tenerrimum (G. Martens) Okamura 1921

Thalle érigé, formant souvent des touffes de 3-4 cm de hauteur, rouge foncé ou rosâtre, constituées par des axes cylindriques atteignant 90 m de diamètre, ramifications, sous forme pseudo-dichotomique, avec des apex parfois avec des ramifications secondaires. Aspect général, zone de l'alternance d'entre-noeuds (cellules axiales nues) et de noeuds (zones faiblement corticales constituées dans ce cas par 6-7 cellules périaxiales internes qui génèrent des filaments ascendants et descendants de cellules corticales pigmentées). Cellules corticales arrondies, polygonales ou ovoïdes, de plus grande taille et subrectangulaires, allongées longitudinalement dans la partie inférieure du noeud. Le thalle se développe à partir d'une base filamenteuse fixée au substrat par des rhizoïdes. Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale. La croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise obliquement.



# Chondracanthus acicularis (Roth) Fredericq in Hommersand, Guiry, Fredericq & Leister 1993

Thalles érigés ou touffes formant des thalles enchevêtrés jusqu'à 10 cm de hauteur, rouge foncé ou noir, rose, pourpre, cartilagineux, élastiques, avec axes légèrement comprimé, jusqu'à un diamètre de 2 mm, ramifié de manière irrégulière, habituellement avec la dernière ramification recourbées et de nombreux ramules secondaires courts, avec apex épineux et pointu inicialement fixe par une petite plaque de base axes stolonifère. le thalle présente occasionnellement des bandes blanchâtres ou verdâtres et des apex pâles. structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. la croissance de nombreuses cellules apicales qui se divisent obliquement. En coupe transversale, médulle des filaments epineux enchevêtrés, formées par des cellules très fines, et de cortex compact, les cellules angulaires internes interconnectés par des synapses et des filaments extérieurs perpendiculaires à la surface de thalle, ramification dichotomique, et sont constitués de petites cellules ovoïdes qui diminuent de taille vers l'extérieur.



# Corallina caespitosa R.H. Walker, J. Brodie & L.M. Irvine

Thalle érigé, fixé par une croûte basale pouvant atteindre 10 mm de largeur, portant des touffes de frondes ramifiées et rigides pouvant atteindre 45 mm de longueur.

Les thalles sont de couleur rose clair à rouge violet, mais aussi gris violacé. Les ramifications sont simples à pennées, très denses et irrégulières. Les branches latérales sont séparées par un espace bien visible caractéristique. Les articles sur les axes principaux sont cylindriques à comprimés et mesurent de 0,5 à 1 mm de longueur et de 0,3 à 0,7 mm de largeur. A l'extrémité de la ramification, on compte 3 à 4 articles (parfois 7) ou un seul article irrégulier et non divisé. Les articulations mesurent entre 0,16 et 0,22 mm de longueur et entre 0,2 et 0,34 mm de largeur.

La croissance du thalle est apicale. Les extrémités en croissance apparaissent plus claires.



## Geldium spinosum (S.G. Gmelin) P.C. Silva 1996

Thalle constitué d'un ou plusieurs axes cartilagineux dressés et comprimés, jusqu'à 4 mm de large, ramifiés de manière irrégulière, avec des branches distales, rarement radiales, insérés obliquement sur les axes et spatulés dans les spécimens fertiles. Thalle atteignant 10 cm de haut, rougeâtre, brun rougeâtre ou verdâtre, souvent développé à partir de stolons rampants attachés au substrat par des courts haptères.

Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale. Croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise transversalement. En coupe transversale, médulle compacte de cellules hyalines entourant un filament axial qui ne se distingue que par des coupes proches des sommets. Cortex de plusieurs couches de cellules arrondies progressivement plus petites vers la surface. Ricine abondante dans la partie interne du cortex et dans la partie externe de la médulle, très rare dans la partie interne.

#### Geldium bipectinatum G. Furnari 1999

Thalle constitué d'un ou plusieurs axes dressés jusqu'à 15 cm de hauteur, rouge foncé ou violet, membraneux ou cartilagineux, compressés, jusqu'à 2 mm de diamètre, irrégulièrement ramifiés, avec les dernières branches minces et aiguës disposées distalement et perpendiculairement sur les axes, comme les dents d'une scie, et développé normalement à partir de stolons rampants attachés au substrat par des courts



#### haptères.

Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale.

Croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise transversalement. En coupe, des masses compactes de cellules hyalines qui entourent un filament axial qui ne se distingue que dans les sections proches des sommets. Cortex à plusieurs couches de cellules arrondies progressivement plus petites vers la surface. Ricine rare, situées dans la partie interne du cortex et parfois dans la partie externe de la médulle.



### Halopithys incurva (Hudson) Batters 1902

Thalle érigé, de 10-25 cm de hauteur, rouges ou noirâtres, rigides et charnus. axes cylindriques principaux nettement différents, d'environ 1 mm de diamètre, portant des branches latérales jusqu'à 4-5 ordres, progressivement plus courts, pectinés, cylindriques, se terminant par des pointes atténuées et incurvées. Axes et branches clairement segmentés, avec des segments beaucoup plus larges que longs. trichoblastes en décomposition rapide disposés en rang sur le côté dorsal des branches. Thalle fixé au substrat par un disque basal rhizoïdal.

Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale.

Croissance d'une seule cellule apicale qui se divise en forme légèrement oblique. Axes multi-volets. En coupe transversale, avec 5 cellules péricentrales entourées de 2-4 couches de cellules médullaires hyalines arrondies et 1-2 couches de petites cellules corticales pigmentées.



# Hypnea musciformis (Wulfen in jacquin) J. V. Lamouroux 1813

Thalle constitués d'axes érigés ou décombants, formant des tapis denses jusqu'à 40 cm de hauteur, rouges, violets ou verts, charnus, cylindriques ou compressés, jusqu'à 2 mm de diamètre, ramifiés de façon subdichotomique irrégulière, souvent revêtues par des ramificationslatéralesépineuses de 1-10 mm de longueur, et avec certains apexqui ont l'aspect de crochet ou de vrille. Les thalles sont fixés au substrat par un petit disque basal et par des haptères. Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale. Croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise obliquement. Médulle compacte constituée d'un filament axial très fin (parfois difficile à distinguer), entourée de 5 (rarement 4-6) cellules médullaires hvalines globulaires, entourées d'autres cellules progressivement plus petites vers l'extérieur. Cortex formé par 1-2 petites couches cellulaires pigmentées, qui diminuent en taille vers l'extérieur.



### Hypnea spinella (C. Agardh) Kützing 1847

Thalles constitués par des axes érigés qui forment des arbustes denses et emmêlés atteignant 3 cm de hauteur, sans axe principal bien défini, de couleur pourpre à mauve pâle ou verdâtre, et de consistance charnue. Axes cylindriques ou comprimés, jusqu'à 1 mm de diamètre, ramifié de façon subdichotomique, avec une abondance de courtes branches, simples ou ramifiées, qui donnent aux axes un aspect de bois de cerf, et avec certains branches épineuses. Le thalle est fixé au substrat par un petit disque basal.

Structure uniaxiale pseudoparenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicale, très visible, qui se divise obliquement. En coupe transversale, la médulle compacte et constituée d'un très mince filament axial toujours apparent, entourée de 5 cellules hyalines médullaires arrondies (rarement 4-6). elles-mêmes entourées d'autres cellules progressivement plus petites vers l'extérieur. Cortex formé par 1-2 couches de petites cellules, pigmenté, dont la taille diminue vers l'extérieur du thalle.



#### Jania adhaerens J.V.Lamouroux 1816

Thalles constitués par des axes érigés, fins et fragiles, partiellement calcifié, géniculé, en génicules alternatif (non calcifiées) avec inter-génicules (calcifiées), et fixés par des axes décombants qui adhèrent secondairement sur le substrat par des petits disques. Thalles forment des groupes subsphériques jusqu'à 30 mm d'hauteur, de couleur rose au blanc grisâtre, avec des axes principaux dichotomiquement ramifiés. Dichotomies irrégulièrement distribuées, généralement dans un plan et avec des angles de ramification ouverts (30-75 °). intergénicules cylindriques ou subcylindriques, 0,4-0,6 mm de longueur par 100-200 µm de largeur, le distal habituellement plus petit. Structure multiaxiale pseudoparenchymateuse. Croissance apicale par la couche terminale des cellules médullaires. En coupe longitudinale, les intergénicules avec la médulle des filaments longitudinaux des cellules sub-cylindrique disposées en strates arquées, le cortex formé par quelques couches de cellules isodiamétriques et une cellule épithéliale. génicules avec une seule strate de cellules allongées.



## Jania rubens var. corniculata (Linnaeus) Yendo 1905

Thalles constitués par des axes érigés, fins et fragiles, mais partiellement calcifiés, géniculé, en génicules alternatif (non calcifiés) avec intergenicules (calcifiées), et fixé par de fins stolons basaux et souvent recourbées. thalles formant des groupes relativement droits, jusqu'à 5 cm de hauteur, de couleur pourpre à blanchâtre ou grisâtre rose, régulièrement tous les 1-2 intergénicules dichotomiques ramifié, et avec des angles très aigus de ramification. intergénicules cylindrique ou sub-cylindrique, de 0.3-1.0 mm de long par 90-200 um de large. Dans la variété corniculata (Linnaeus) allant des intergeniculos présents dans la partie distale 2 en sens inverse de petites cornicules courtes extensions. Structure multiaxiale pseudoparenchymateuse. Croissance apicale par la couche terminale des cellules médullaires. En coupe longitudinale, les médullaires des intergenicules constitués par des filaments longitudinaux de cellules sous -ciliaires disposées en strates arquées, cortex de quelques couches de cellules isodiamétriques et une cellule épithéliale. Génicules avec une seule strate de cellules allongées.



## Lithophyllum incrustans Philippi 1837

Thalle encroutant, calcifiés, rigides et calcifiés adhérant fortement aux substrats, de couleur brun grisâtre, jusqu'à 10 cm de diamètre et 800 m d'épaisseur, ondulés ou lisses, et avec des magrins croûtés voisins souvent élevés en forme de crête. structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. la croissance par division des cellules subépitaliales. en coupe longitudinale radiale, organisation dorsiventrale, des croûtes avec une couche ventrale de filaments dont les filaments érigés proviennent de cellules subcylindriques alignées latéralement non interconnectées par des synapses secondaires, et finies en 4 couches de cellules épithéliales arrondies.



# Pterocladiella capillacea (S.G.Gmelin) Santelices & Hommersand 1997

Thalles constitués d'axes érigés, jusqu'à 20 cm de hauteur, rouge foncé ou rose, cartilagineux mais flexible, de 0,6 à 1,5 mm de diamètre, nue dans les parties basales et densément ramifiées dans l'extrémité distale sous forme alternée ou opposée, et avec des apex spatulés. Les thalles se développent normalement à partir de stolons rampants attachés aux substrats par des rhizoïdes. Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale. Croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise transversalement. En coupe

transversale, la médulle contient des cellules hyalines entourant un filament axial qui est uniquement destiné dans des sections proches des sommets. Cortex de plusieurs couches de cellules arrondies dont la taille diminue vers l'extérieur. Cellules corticales externes circulaires en vision superficielle et disposées plus ou moins régulièrement en rangées. Ricine entre les cellules médullaires.



### Phyllophora crispa (Hudson) P.S.Dixon 1964

Thalle érigé rougeâtre, jusqu'à 25 cm de hauteur, de couleur rouge foncé ou violet, cartilagineux, jusqu'à 1 cm de large, ramifiés de facon dichotomique ou irrégulière, avec des sommets normalement arrondis et des marges ondulées, avec un nerf central dans la partie basale qui peut s'étendre jusqu'au milieu du thalle, avec de nombreuses proliférations apicales, marginales ou de surface, et développé à partir d'un disque basal. Structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. Croissance à partir de nombreuses cellules apicales qui se divisent obliquement. En coupe transversale, la médulle est compacte, constituée de cellules arrondies, hyalines, à paroi épaisse, et le cortex formé par 1-3 couches de petites cellules pigmentées. En vision superficielle, cellules corticales externes polygonales et disposées de manière compacte.



## Sphaerococcus coronopifolius Stackhouse 1797

Thalle gamétophyte est de consistance cartilagineuse, allant d'un rouge sombre à la base vers un carmin vif aux extrémités. La ramificationest irrégulière, les rameaux s'aplatissent vers les parties supérieures. Les ramifications augmentent et s'affinent aux extrémités, laissant apparaître une organisation partiellement alterne. Ces extrémités se différencient en ramules épineux, la taille des axes jusqu'à 30 cm de hauteur et 3 mm de largeur. Thalle cartilagineux, avec la marge lisse et fixée au substrat par un disque basal à partir duquel s'élèvent un ou plusieurs axes cylindriques. Il présente un nerf central peu visible mais présent dans tout le thalle. Structure pseudoparenchymateuse uniaxiale. Croissance à partir d'une seule cellule apicale qui se divise transversalement. En coupe transversale, thalle bilatéralement comprimé, plus compact au centre que dans les bords. La médulle compacte, constituée dans les axes adultes par un filament axial très apparent, qui est à l'origine de 4 cellules péri-axiales, entouré de rhizoïdes, puis de cellules médullaires hyalines et arrondies dont la taille diminue vers l'extérieur. Cortex compact formé par des filaments perpendiculaires à la surface du thalle, ramifié dichotomiquement et constitué de cellules ovoïdes.



# Tricleocarpa fragilis (Linnaeus) Huisman & R.A.Townsend 1993

Thalles gamétophytes érigés, légèrement calcifiés, assez flexibles, atteignant 7 cm de hauteur, de couleur roses, parfois grisâtres ou blanchâtres, formés par des axes cylindriques de 1,5-2,0 mm de diamètre dichotomiquement ramifiés tous les 6-11 mm et fixés aux substrats par une base discoïde. Structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. Croissance par les cellules terminales des filaments médullaires situés dans une dépression apicale. En coupe transversale, la médulle des filaments enchevêtrés et le cortex consolidé constitué de 3-4 strates de cellules, les plus internes grandes, hyalines et allongées, et les externes progressivement plus petites et pigmentées.

## Pheophyceae



## Cystoseira amentacea (C. Agardh) Bory de Saint-Vincent 1832

C'est une espèce cespiteuse, non-tophuleuse, de 40 à 50 cm de haut, de couleur brune caractérisée par une iridescence bleu-vert, fixée par une épaisse base encroûtante de laquelle partent plusieurs axes dressés. Les axes sont cylindriques et courts, mesurant de 2 à 10(15) cm de haut. Les apex sont épineux, peu proéminents. Les rameaux primaires sont cylindriques et peuvent atteindre 40 cm de longueur. Les rameaux secondaires sont relativement courts comparés aux rameaux primaires. Les rameaux ont des appendices épineux ('feuilles' sensu Sauvageau). Les bases des axes primaires sont non ramifiées, en particulier au printemps. Les réceptacles sont localisés aux apex de tous les rameaux et mesurent de quelques millimètres à 2 cm de long. Ils sont compacts (amentiformes) et épineux, avec un diamètre plus large que celui des rameaux sur lesquels ils sont portés. Les individus sont fertiles du printemps à l'automne. La base et les axes primaires sont pérennes mais les rameaux sont caducs et tombent à l'automne. (Agardh, 1842; Hamel, 1931-1939; Molinier, 1960; Gómez-Garetta et al., 2000).

3 variétés de C. amentacea ont été décrites: - Cystoseira amentacea var. amentacea qui correspond à C. amentacea (C. Agardh) Bory. Cette variété est plus épineuse et les axes sont petits (jusqu'à 3 cm). Elle est distribuée en Méditerranée orientale. - Cystoseira amentacea var. stricta Montagne a un aspect moins épineux (présence de feuilles longues) et les axes sont plus grands (jusqu'à 10cm). Elle est distribuée en Méditerranée occidentale. - Cystoseira amentacea var. spicata (Ercegovic) Giaccone qui a été mise en synonymie avec Cystoseira amentacea var. stricta.

Cormaci et al. (2012) et Guiry & Guiry (2016) considèrent les deux variétés valides. Les variétés se définissent par des différences génétiques significatives. Actuellement, en absence de données génétiques, Nous considérons dans nos études C.

amentacea comme une espèce unique.

Cystoseira amentacea vit dans l'infralittoral supérieur, du zéro biologique jusqu'à environ 50 cm de profondeur, en mode battu, préférentiellement là où l'intensité lumineuse et l'hydrodynamisme sont importants. L'espèce peut former des ceintures littorales plus ou moins denses et continues.



## Cystoseira algeriensis Feldmann 1945

Thalles érigés arborescents atteignant 25 cm de hauteur, de couleur brun jaunâtre, fixés au substrat par une base discoïde robuste à partir de laquelle un seul cauloïde dressé, jusqu'à 10 cm de hauteur, également robuste, généralement simple ou divisé en 2-3 fois donnant un ou plusieurs cauloïdes secondaires, et portant des branches qui ramifient à 3-4 ordres. Cauloïdes avec apex lisse, non proéminent, avec des protubérances qui fonctionnent comme des structures de réserve ovoïdes (tophules), lisses ou rugueuses, situées principalement dans la partie apicale de la cauloïde. Ramifications primaires aplaties à la base où elles atteignent 2 mm de large, traversées par un nerf central, cylindriques dans la partie apicale, robustes, et avec appendices épineux dispersés, triangulaires et rigides. Les branches secondaires et tertiaires sont également pourvues d'épines. Absence d'aerocystes et cryptes pilifères dispersés. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'une cellule apicale non observable en vue superficielle. En coupe transversale, le novau central de petites cellules, hyalines étroitement espacées l'une à l'autre, cortex grande cellule très épais, hyalines, rondes, les plus petits vers l'extérieur, et les méristodermes unistratifiés de cellules pigmentées disposées en palissade.



## Cystoseira montagnei Sauvageau 1912

C'est une espèce robuste, non-cespiteuse, tophuleuse pouvant mesurer jusqu'à 30 à 40 cm de hauteur. Fixé au substrat par un disque basal, l'axe simple, jusqu'à 30 cm de hauteur et 3 à 6 mm de diamètre a un apex non proéminent et épineux. Les tophules, 6-10 mm x 3-5 mm, sont oblongs et épineux. Les rameaux primaires sont cylindriques à la base, de 1 mm de diamètre et généralement aplatis avec une nervure médiane dans les parties distales où ils mesurent 1-1.5 mm de large. Les rameaux secondaires sont similaires aux rameaux primaires, certains peuvent être entièrement aplatis. Les rameaux de tous les ordres ont des ramules épineux ('feuilles') triangulaires et corniculés, avec un diamètre à la base de 0.5 à 1 mm, plus important dans les parties cylindriques que dans les parties aplaties. Les cryptes pilifères sont présentes sur les rameaux et les ramules. Les aérocystes sont absents. Les réceptacles terminaux diffus à conceptacles espacés axiaux ou différenciés dans la base des ramules épineux tendent à devenir plus

ou moins compacts au niveau des extrémités des rameaux. Cette variété est fertile durant le printemps et l'été



## Cystoseira zosteroides (Turner) C.Agardh 1821

Cystoseira zosteroides est une espèce non-cespiteuse, tophuleuse de couleur brun-vert légèrement iridescent, pouvant atteindre 50 cm de hauteur. Fixé au substrat avec un haptère simple ou ramifié, l'axe simple ou ramifié, de 10-20 cm de hauteur, est noirâtre et a des apex lisse et proéminent. Les tophules sont gros, 10 à 20 mm x 4 à 8 mm, cylindriques ou ovoïdes, complètement lisses, noirâtres ou brun-jaunâtres, sessile ou avec un pédoncule court. Les rameaux primaires sont cylindriques, légèrement aplatis.

Les rameaux d'ordres supérieurs sont foliacées, et peuvent mesurer plusieurs centimètres de long et 1-1.5 mm de large, avec une nervure médiane peu prononcée et des ramules épineux ('feuilles') aplatis et triangulaires de 1 mm de long. Les aérocystes sont absents. En automne et en hiver, les individus sont réduits aux axes couverts de tophules. En fin d'hiver, les rameaux commencent à se développer et au printemps et en début d'été, la plante atteint son maximum de développement. Les rameaux tombent en fin d'été. Les réceptacles fusiformes ou lancéolés, 4-12 mm x 1-2 mm, sont intercalaires à la base des rameaux secondaires. Des réceptacles terminaux épineux peuvent être occasionnellement présents. Cette espèce est fertile au printemps et en été (Gómez-Garetta et al., 2000).

Cystoseira zosteroides vit dans l'infralittoral et le circalittoral, entre 25 m et 80 (100) m de profondeur. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicale non observable en vue superficielle. En coupe transversale, une zone centralemédullaire constituée de petites cellules, hyalines et très rapprochés l'une de l'autre, cortex très épais avec de grandes cellules, hyalines, arrondies et plus petites vers l'extérieur, et méristoderme unistratifié de cellules pigmentées disposées en palissade.



# Cystoseira compressa (Esper) Gerloff & Nizamuddin 1975

C'est une espèce cespiteuse, non-tophuleuse, de taille variable suivant l'hydrodynamisme du site (de quelques cm de haut dans les zones exposées à 50-60 cm dans les zones abritées). Les axes sont fixés au substrat par un petit disque basal. Ils sont cylindriques ou légèrement aplatis, généralement très courts de 1 à 3 (10) cm et à apex lisses. L'apparence de l'algue et des rameaux sont dépendants de l'hydrodynamisme. Dans les zones exposées, l'espèce reste petite, prostrée et prend une forme en 'rosette' (C. compressa subsp. compressa f. rosetta). Les rameaux sont rayonnants, aplatis et ramifiés de façon distique dans un plan. Dans

les zones abritées, les individus sont de plus grande taille. Les rameaux primaires sont aplatis à la base et cylindriques à l'apex, à ramification distique alterne et avec des rameaux secondaires et tertiaires abondants. L'espèce peut produire des aérocystes de 3-5 mm x 1-2 mm, isolés ou en chaînes. Les réceptacles, jusqu'à 1 cm de long, sont terminaux, compacts, simples et petits au printemps et ramifiés avec un aérocyste en étéautomne. L'espèce est fertile d'avril à novembre avec un pic dans la formation des réceptacles en juillet-août (Gómez-Garetta et al., 2000).

Cystoseira compressa subsp. compressa vit dans l'infralittoral supérieur, du zéro biologique jusqu'à 1 m de profondeur, dans des zones abritées et exposées.



### Cystoseira sauvageauana Hamel 1939

thalles arborescents érigés, jusqu'à 40cm de hauteur, de couleur brune légèrement iridescente, non-cespiteuse, non-tophuleuse. Fixé au substrat par un petit disque circulaire peu épais, l'axe tronciforme, simple ou ramifié, de couleur noir brillant, jusqu'à 25 cm x 3-8 mm, a des apex épineux, longuement saillants et plus ou moins renflés comme une massue. Les rameaux primaires, cylindriques ou légèrement renflés à la base et grêles au-dessus, jusqu'à 20 cm de long, sont espacés et couverts de ramules épineux ('feuilles') espacés. Les rameaux d'ordres supérieurs sont cylindriques à ramules épineux ('feuilles') espacées. Les cryptes pilifères sont éparses sur les rameaux et les ramules. Les aérocystes sont absents. Les réceptacles terminaux sont longs et cylindriques, jusqu'à 3 cm x 2 mm, simples ou ramifiés, tuberculés, avec ou sans épines. Les conceptacles sont différenciés dans le rameau et dans la base des épines. Les renflements de l'axe et de la partie inférieure des rameaux primaires, peuvent être importants et irréguliers. Cette espèce est fertile toute l'année, bien que les réceptacles ne soient pas abondants en automne. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicalnon observable en vue superficielle. En section transversale médulle centrale de petites cellules hyalines et très proches entre elles; cortex très épais de grandes cellules, hyalines arrondies et plus petites vers l'extérieur, et méristodermes unistratifiés de cellules pigmentées disposées en palissade



## Cystoseira elegans Sauvageau 1912

Thalle arborescent erigé, non-cespiteuse tophuleuse, jusqu'à 30 cm de hauteur, de couleur brune claire, à iridescence verte et procurant une sensation légèrement épineuse au toucher. Fixé au substrat par un petit disque circulaire, l'axe est tronciforme, court, 1 à 3 cm de hauteur (rarement jusqu'à 7 à 8 cm), généralement simple à apex épineux non-saillant. Les rameaux primaires sont pourvus de tophules épineux (= renflement basal persistant sur l'axe après la chute saisonnière des rameaux) mesurant 6-10 mm x 3-5 mm, disposés le long de l'axe. Les rameaux primaires, jusqu'à 20 cm de long, sont minces, cylindriques et nus à la base. Les rameaux d'ordres supérieurs sont cylindriques et couverts de ramules épineux ('feuilles'), largement insérés, de forme palmée-dentée à étroite-bifide, et mesurant de 1 à 3 mm de long. Les cryptes pilifères sont éparses sur les rameaux et sur les ramules. Les aérocystes sont absents. Les réceptacles terminaux sont cylindriques, étroits, simples ou bifurqués, tuberculés avec épines (amentiformes) et mesurent de 1 à 3 cm de long. Les conceptacles sont peu saillants et différenciés dans le rameau (conceptacles axiaux) et dans la base des épines. Cystoseira elegans est fertile toute l'année mais les réceptacles sont les plus développés au printemps. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicalnon observable en vue superficielle. En section transversale médulle centrale de petites cellules hyalines et très proches entre elles ; cortex très épais de grandes cellules, hyalines arrondies et plus petites vers l'extérieur, et méristodermes unistratifiés de cellules pigmentées disposées en palissade



# Colpomenia sinuosa (Mertens ex Roth) Derbès & Solier in Castagne 1851

Thalle irrégulièrement globuleux, lobés, cérébraux, atteignant 20 cm de diamètre, de couleur brun clair, presque jaunâtre, cette algue brune de consistance ferme mais cassante. Elle se présente comme une boule creuse irrégulière (cérébriforme) couverte de petites touffes de poils fins réunis en groupes dans des cryptes. Les sores sont des amas de petites sphères, les sporanges (petit sac contenant les spores). Les sores « punctiformes » sont disposés autour des touffes de poils.

Thalles fixés au substrat par des rhizoïdes.

Structure parenchymateuse.

Croissance diffuse. En coupe transversale, les parois du thalle peuvent atteindre jusqu'à 500 m d'épaisseur et se composent de 4 à 6 couches de cellules médullaires arrondies, hyalines, dont la taille augmente progressivement, et de 1 à 2 couches de petites cellules corticales pigmentées. 4-12 m de diamètre. Dans un premier temps le thalle est globuleux, solide et sans

touffe de poils, puis il prend une forme cérébriforme. Son développement est maximum au printemps et en été, cette algue brune est néanmoins présente toute l'année.



# Colpomenia peregrina Sauvageau 1927

C'est une algue brune annuelle aisément identifiable. Elle se caractérise par un thalle brun olive qui se présente toujours sous la forme d'une vésicule sphérique creuseplus ou moins irrégulière. La paroi de la vésicule est mince et lisse et elle se rompt facilement. Au microscope on peut voir que cette vésicule se compose de plusieurs couches de cellules et que seules les couches externes de la vésicule sont colorées par les pigments photosynthétiques.

Ces vésicules peuvent être de taille variable et sont, soit remplies d'eau, soit remplies d'air, ce qui peut faire varier l'intensité de leur coloration. L'algue atteignant 30 cm de diamètre et se fixe aux substrats par des rhizoïdes qu'elle développe à leur base, ces algues peuvent se fixer sur tout les types de substrats. Les rhizoïdes sont cachés en général par les replis du thalle.



#### Halopteris filicina (Grateloup) Kützing 1843

Thalles érigé, jusqu'à 15 cm de hauteur, de couleur brun olive, formés par des axes cylindriques segmentés, très ramifiés en plusieurs fois alternative et distique, avec des ramifications issues de la paroi de séparation de deux segments consécutifs, les principaux avec de grandes cellules apicales et cylindrique, et ceux de croissance limitée petite et conique. A la base de chaque branche se forme une petite branche, simple ou ramifiée, du même côté que la première branche, très rarement remplacée par des poils. Thalle fixé au substrat par un disque basal composé de nombreux rhizoïdes entrelacés. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicale très visible, plus sombre que le reste. Les cellules de l'axe se divisent transversalement et longitudinalement, provoquant ainsi leur épaississement. En coupe transversale, de grandes cellules médullaires angulaires entourées d'un cortex monostromal de petites cellules. A la base du thalle se développent des rhizoïdes.



### Halopteris scoparia (Linnaeus) Kützing 1843

Thalles dressés sous forme d'arbuste, atteignant 15 cm de haut, de texture un peu rugueuse et de couleur brun foncé, constitués d'axes alternés segmentés, avec des branches provenant de la paroi de séparation de deux segments consécutifs et de nombreuses branches épinglées de croissance limitée disposés radialement, ramifiés à leur tour dans des branches de dernier ordre, souvent simples, légèrement arqués et pointus. Thalle fixé au substrat par un rhizoïde. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicale très visible, plus sombre que le reste. Les cellules des axes se divisent transversalement et longitudinalement, provoquant ainsi l'épaississement du thalle. En coupe transversale, de grandes cellules médullaires angulaires entourées d'un monostromal de petites cellules. Des rhizoïdes se développent à la base du thalle.



## Dictyota dichotoma (Hudson) J.V.Lamouroux 1809

Thalle érigé, atteignant 25 cm de haut, effilé, membraneux, de 3-10 mm de large, brun jaunâtre, avec des iridescences vert-bleuâtre dans l'eau, régulièrement ramifié dichotomique sur un plan, et avec de nombreux groupes de poils sur la surface. Thalle fixé au substrat par une base rhizoïdale. Structure parenchymateuse. Croissance par une seule cellule apicale lenticulaire. En coupe transversale, la médulle formée par une seule couche de grandes cellules hyalines sous jacentes, et le cortex constitué par une couche de petites cellules sous-jacentes et pigmentées.



## Dictyota fasciola (Roth) J.V.Lamouroux 1809

Thalles dressés, de 20 cm de haut, effilés, membraneux, de 1-2 mm de large, ramifiés, de forme subdichotomique irrégulière, parfois légèrement enroulés, brun jaunâtre, légèrement iridescents, avec de nombreux groupes de poils feoficieux sur leur surface. Apex lancéolé et aigus, légèrement forcipé chez les thalles adultes. Thalles fixés au substrat par des stolons médianes.

Structure parenchymateuse. Croissance par une seule cellule apicale lenticulaire. En coupe transversale, médulle avec 2-4 couches de cellules hyalines presque grandes dans la partie basale et dans la marge du thalle, et uni-stratifiées dans le reste, et cortex constitué d'une seule couche de petites cellules, carrées et pigmentées.



# Dictyota implexa (Desfontaines) J.V.Lamouroux 1809

Thalles dressés, atteignant 14 cm de haut, constitués d'axes coniques membraneux, de 0,5-1,5 mm de large dans tout le thalle. Espèces vert jaunâtre, aux bords irisés, abondamment ramifiées sous forme régulièrement dichotomique et divariquée, fixées au substrat par une base rhizoïdale. Structure parenchymateuse. Croissance par une cellule apicale lenticulaire. En coupe transversale, la médulle est constituée d'une seule couche de grosses cellules hyalines et un cortex d'une couche de petites cellules pigmentées.



### Dictyota spiralis Montagne 1846

Thalle érigé en forme de rubans étroits atteignant 15 cm de hauteur et de 3 à 4 mm de largeur, opaque, membraneux, de couleur brun-jaunâtre, avec des extrémités parfois iridescentes de couleur verdâtre. Les lanières sont dépourvues de nervure médiane. La ramification est pseudodichotome dans un plan. Les dichotomies sont peu nombreuses. Les lanières sont le plus souvent droites mais parfois elles peuvent présenter l'amorce d'une légère spiralisation. Des individus ne présentant qu'une seule dichotomie sont souvent rencontrés. Les segments terminaux sont droits, plus larges que ceux de la base du thalle et en forme de spatulesà apex arrondi. Les deux faces du thalle portent des groupes de poils isolés. Le thalle est fixé au substrat par des stolons. Structure parenchymateuse. La croissance se fait par dichotomie à partir d'une seule cellule apicale lenticulaire. En coupe transversale, la médulle de 2-6 couches de grosses cellules hyalines incolores et le cortex « monostromatique » constitué d'une seule couche de petites cellules quadratiques et pigmentées dans la plus grande partie du thalle, devient polystromatique dans la région basale.



## Taonia atomaria (Woodward) J.Agardh 1848

Thalle érigé, atteignant 30 cm de hauteur, effilés, membraneux, de 1-10 mm de large, verts bruns ou cunéiformes et avec des jaunâtres, bandes concentriques plus foncées constituées de poils. Ramifications subdichotomique à irrégulière, avec marge entière ou dentée, et segments terminaux fréquemment lacérés. Thalle fixé au substrat par d'une base rhizoïdale. Structure parenchymateuse. Croissance apicale à partir d'un petit groupe de cellules. En coupe transversale, la médulle est constituée de 2 à 6 couches de cellules hyalines, isodiamétriques, relativement ordonnées, et cortex d'une couche de cellules quadratiques, pigmentées et ont presque la même largeur que les cellules médullaires.



# Dictyopteris polypodioides (A.P.De Candolle) J.V. Lamouroux 1809

Thalle érigé, long etaplati jusqu'à 40 cm de hauteur, fragil, membraneux, de 5-15 mm de large, brun clair à vert jaunâtre, plus oumoins translucide à divisions pseudodichotomiques, formés d'une nervure centrale, très visible de la base jusqu'aux extrémités, bordée de part et d'autre par une marge membraneuse polystromatique (à plusieurs couches de cellules 1-2 mm de large. Groupes de nombreux poils disposés en lignes ou au hasard. Thalle fixé au substrat par un disque basal épais formé par de petits filaments allongés (rhizoïde). Structure parenchymateuse. La croissance apicale d'un petit groupe de cellules. En coupe transversale, nerf central de 8-25 cellules d'épaisseur, et rubans de 2 (-4) couches de grosses cellules hyalines, seulement monostromatiques dans les marges. Aucune distinction morphologique entre la médulle et le cortex.



## Nereia filiformis (J.Agardh) Zanardini 1846

Thalle sporophyte érigé, atteignant 12 cm de hauteur, constitué en un ou plusieurs axes cylindriques brun jaunâtre et de 1-2 mm de diamètre, ramifiés sous forme radiale ou irrégulière, et portant de petites protubérances disposées radialement et régulièrement et terminées en touffe de filament pigmenté. Thalle fixé au substrat par une base rhizoïdale. Structure pseudoparenchymateuse multiaxiale. Croissance apicale tricéphale avec de nombreux filaments terminaux. En coupe transversale, la médulle est formée de cellules hyalines arrondies et d'un cortex constitué par des papilles de 2-3 cellules, dont les extrémités sont plus grandes et piriformes. Gamétophyte microscopique, filamenteux, ramifiés et avec croissance apicale.



# Phyllariopsis brevipes (C.Agardh) E.C. Henry & G.R. South 1987

Thalle sporophyte érigé, laminaires, jusqu'à 70 cm de hauteur, brun olivâtre, constitué par une base discoïde simple ou muni de courts haptères non ramifiés. légèrement translucide, habituellement dilaté dans les parties basales et rétréci vers l'apex, avec des marges ondulées et avec de plusieurs groupes de poils sur sa surface. Structure parenchymateuse. Croissance à partir d'un méristème situé à la base de la feuille qui permet à la fois la croissance du stipe et de la feuille. Médulle avec un système conducteur spécialisé constitué par des cellules allongées avec des parois épaissies et des cellules connectives latérales, cortex multicouche de cellules quadratiques, hyalines, et méristoderme unistratifié de cellules pigmentées. En vision

superficielle, cellules corticales polygonales. Gamétophyte microscopique, formé de courts filaments ramifiés, avec croissance apicale, non trouvé dans la nature.



# Padina pavonica (Linnaeus) Thivy in W.R.Taylor 1960

Thalle érigé de jusqu'à 20 cm de hauteur, constitués d'une lame flabelliforme, à marge ciliée, brun blanchâtre, entières ou lobées, plus ou moins dentelées en forme d'entonnoir. La lame est souvent enroulée en cornet avec des stries concentriques. La surface du thalle est ornée de fines rangées concentriques de poils. Espèces faiblement calcifiée, présente un dépôt de carbonate de calcium très faible ou absent sur le côté supérieur de la feuille, et faible sur la partie inferieur, munie d'un court pédoncule. Thalle fixés au substrat par des rhizoïdes avec une base courte plus ou moins cylindrique formant un pédicelle conique. Plusieurs individus sont souvent groupés car nés d'un même système basal rampant. Structure parenchymateuse. Croissance marginale. Coupe transversale constituée de 2-4 strates de cellules quadratiques peu pigmentées, (2 strates dans les marges, 3 dans la portion médiane et 4 dans la base), sans différence claire entre la médulle et le cortex.



# Zonaria tournefortii (J.V.Lamouroux) Montagne 1846

Thalle érigé, atteignant 25 cm de hauteur. foliacéeprésente des lobesdichotomes, constitués par des lames flabelliforme, irrégulièrement divisées, vert brunâtre à iridescence violacée sous l'eau, et à stries concentriques. Feuilles portées par un stipe subcylindrique de 2-3 cm de longueur et de 3-8 mm de largeur, sub-dichotomiquement ramifié, enrobé par des filaments rhizoïdaux descendants provenant des parties médianes des feuilles. Thalle fixé au substrat par une base discoïde de nature rhizoïdale. Structure parenchymateuse. Croissance marginale par des cellules très visibles. En coupe transversale, médulle de 4 couches de cellules hyalines, quadratiques, disposées en rangées ordonnées, et cortex constitué d'une seule couche de cellules quadratiques, pigmentées et plus petites.

#### Zonardinia typus (Nardo) G. Furnari 1999

Thalle constitué par des feuilles prostrées jusqu'à 20 cm de diamètre avec la marge portant des filaments pigmentés, bien que dans la plupart des spécimens adultes, ceux-ci peuvent être manquants. les jeunes limbes sont arrondis ou reniformes. La membrane est de couleur jaune verdâtre, et les limbes adultes sont



généralement irrégulièrement fracturés, ils sont brun foncé et coriaceae brillants et peuvent dépasser 500 m d'épaisseur. les poils présents de thalle isolés ou feoficeas sur sa surface supérieure et sont fixés sur le substrat par un simple rhizoïde multicellulaire provenant de la partie ventrale. structure parenchymateuse. croissance marginale tricotalic. En section transversale la médulle est formée par de grandes cellules arrondies hyalines. le cortex de la face supérieure constitué de plusieurs couches de cellules, tandis que celui de la face inférieure est stratifié et donne naissance aux rhizoïdes. en vision superficielle, les cellules sont disposées radialement de façon uniforme, bien que dans la surface inférieure il y ait des plaques de forme radialement allongée, situées près de la marge, et constituées par des cellules de disposition irrégulière.



## Sargassum vulgare C.Agardh 1820

Thalle dressé arborescent, pouvant mesurer jusqu'à 70 cm de hauteur. Fixé au substrat par un disque basal, l'axe primaire est court, 2 à 4 cm de hauteur. Les rameaux primaires sont très développés, cylindriques, 2 mm de diamètre, lisses ou muriculés. Les 'feuilles' sont abondantes, allongées et de formes variables. Différentes variétés ont été décrites sur la base de la forme des 'feuilles' : - var. megalophyllum (Montagne) Grunow f. megalophyllum: 'feuilles' assez larges, pourvues de dents nombreuses souvent bifides. - var. megalophyllum f. cirrhosa Bornet : 'feuilles' réduites à une nervure portant des dents. - var. coarctatum Kützing: 'feuilles' à marges simplement ondulées à peine dentées. - var. diversifolia (Bory) Grunow: 'feuilles' plusieurs fois divisées de façon alterne dans un plan. Les aérocystes sont subsphériques, nonmucronés et pédicellés, avec un diamètre de 3-5 mm, et un pédicelle arrondi ou comprimé, parfois ailé et denté. Les organes reproducteurs sont petits, 3 à 10 mm de longueur, et formés d'un pédicelle stérile cylindrique ramifié une fois et terminé par des réceptacles verruqueux, fusiformes, simples ou bifurqués. L'espèce peut être fertile presque toute l'année, avec un pic au printemps et en été (Gómez-Garetta et al., 2000). Structure prenchymateuse. Croissance à partir d'une seule cellule apicale non observable en vue superficielle. En coupe transversale, médulle centrale de petites cellules hyalines très proches l'une de l'autre, cortex très étendu de grosses cellules, hyalines arrondies et plus au moins petites vers la fin, et méristoderme uni-stratifié de cellules pigmentés disposés en palissade.

Sargassum vulgare peut se rencontrer dans l'infralittoral et le circalittoral (var. diversifolia), entre la surface et 40 m de profondeur, ainsi que dans des cuvettes littorales.



### Sargassum hornschuchii C. Agardh 1820

Sargassum hornschuchii est une espèce pouvant atteindre 50-60 cm de hauteur. Fixé au substrat par un disque basal, l'axe primaire est court, 2-5 cm de hauteur, cylindrique et verruqueux. Les rameaux primaires, aplatis vers la base ou parfois ailés avec quelques dents sur les marges, peuvent atteindre 50 cm de longueur. Les 'feuilles', 4-8 cm x 5-15 mm, sont ondulées avec une nervure médiane bien marquée et des marges irrégulièrement découpées, lisses ou finement dentées. Les aérocystes brièvement pédicellés sont sphériques, avec un diamètre de 3 à 8 mm, glabres ou avec un court mucron. Les organes reproducteurs, de 1 à 5 cm de longueur, sont formés d'un pédicelle stérile plusieurs fois ramifié et terminé par des réceptacles aplatis ou triquètres (c'est-à-dire à trois angles saillants), denticulés sur les bords.

### Phanérogames



## Cymodocea nodosa (Ucria) Ascherson 1870

Plante constituée par un système de tiges souterraines (rhizomes), quelques une longues horizontales et d'autres plus courtes verticales, fines, de couleur rose, conservant des nœuds et entre-nœuds des intervalles réguliers, et avec des racines solitaires originaires des nœuds. Les rhizomes portent des faisceaux de 3-4 feuilles avec une gaine verte et conique de 3-7 cm de longueur, de (5-) 10-40 (-80) cm de longueur et de 2-5 mm de largeur, couvert par 7 -9 Nerfs parallèles, avec un apex arrondi, obtus et légèrement denticulés, et en tombant, laissent dans le rhizome des cicatrices annulaires proéminentes. Croissance méristématique.



## Posidonia oceanica (Linnaeus) Delile 1813

Plante constituée de tiges souterraines (rhizomes) horizontales et verticales, de 1 cm de diamètre, entièrement recouvert d'écailles fibreuses (anciennes restes des gousses de feuilles mortes), et avec quelques racines de 10-15 cm de longueur et 2-4 mm d'épaisseur. Les rhizomes les plus superficiels donnent naissance à des faisceaux dressés constitués de 4 à 10 feuilles munies d'une gousse basale, longue de 2 à 5 cm, persistante sur les rhizomes. Feuilles vertes et effilées, de (15-) 25-80 (-120) cm de longueur et de 7-11 mm de largeur, couvertes de 10-17 nervures parallèles et dont l'apex est obtus et lisse. L'ensemble des rhizomes et des sédiments forment une structure complexe appelée *mata*, qui se développe sous la prairie de *P. oceanica*. Croissance méristématique.

## Azote ammoniacal

o Composition et préparation des produits nécessaires aux dosages

# Solution de phénol - nitroprussiate

## Produits utilisés

- Phénol (C6H5OH).
- Nitroprussiate de sodium dihydraté (Na<sub>2</sub> Fe(CN)<sub>5</sub>NO, 2H<sub>2</sub>O).

# Préparation

- Dissoudre 65 g de phénol dans 800 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 1,5 g du Nitroprussiate de sodium dihydraté;
- Mélanger puis compléter à 1000 ml;
- Conserver la solution au réfrigérateur.
- Solution stable entre 2 à 3 semaines.

# Solution alcaline complexante

## Produits utilisés

- -Citrate trisodique dihydraté (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>, 2H<sub>2</sub>O).
- Hydroxyde de sodium (NaOH).

# Préparation

- Dissoudre 375 g de citrate trisodique et 30 g de NaOH dans 800 ml d'eau distillée ;
- -Mélanger puis compléter à 1000 ml.
- Solution stable pendant plusieurs mois à température ambiante.

# Solution complexante au chlore

## Produits utilisés

- -Solution alcaline complexante.
- -Dichloroisocyanurate de sodium dihydraté (C<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>3</sub>, 2H<sub>2</sub>O).

## Préparation

- A la solution alcaline complexante, ajouter 8 g de dichloroisocyanurate de sodium dihydraté par litre ;
- Solution instable, à préparer en quantité juste nécessaire à la série d'analyse.
- o Composition et préparation de la solution étalon diluée d'ammonium

# Solution étalon concentrée d'ammonium à 10000 µmol/L

## Produit utilisé

- Sulfate d'ammonium ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

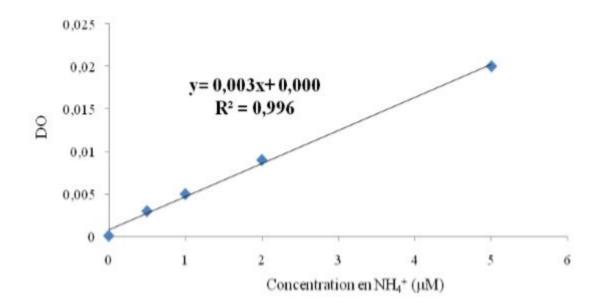
# Préparation

- Sécher du sulfate d'ammonium à 105 °C pendant 1 heure ;
- Peser 0,661 g de sulfate d'ammonium pour 1000 ml de solution préparée en fiole jaugée, avec de l'eau distillée ;
- Conserver à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant une année.

# Solution étalon diluée d'ammonium à 500 µmol/L

## **Préparation**

- Diluer 20 fois la solution étalon concentrée (10000  $\mu$ mol/L) pour obtenir la solution étalon diluée (500  $\mu$ mol/L) ;
- Solution ne se conserve que quelques heures.
- o Représentation graphique de la courbe d'étalonnage de l'NH4<sup>+</sup>



## **Nitrite**

# o Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage

# Solution de sulfanilamide

## Produits utilisés

- Sulfanilamide (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S).

# Préparation

- Diluer 50 ml d'HCl dans 250 ml d'eau distillée;
- Ajouter 5 g de sulfanilamide, puis compléter à 500 ml;
- Conserver la solution à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant plusieurs mois.

# Solution de N-naphtyl-éthylènediamine

#### Produit utilisé

- Dichlorohydrate de N- (1-naphtyl)-éthylènediamine (NED) (C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>,2HCl).

## **Préparation**

- Dissoudre 0,5 g de NES dans 500 ml d'eau distillée ;
- Conserver la solution à 4 °C et à l'abri de la lumière.
- Solution à renouveler dès qu'elle prend une coloration brune.

## o Composition et préparation de la solution étalon de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>

# Solution étalon concentrée de nitrite à 5000 µmol/L

## Produit utilisé

- Nitrite de sodium anhydre (NaNO<sub>2</sub>).

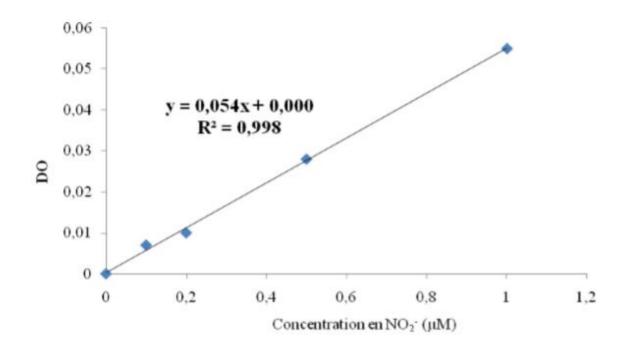
## Préparation

- Sécher le nitrite de sodium à 100 °C pendant 1 heure ;
- Dissoudre 0,345 g dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Conserver la solution à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant une année.

# Solution étalon diluée de nitrite à 50 µmol/L

# **Préparation**

- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée avec de l'eau distillée ;
- Cette solution ne se conserve que quelques heures.
- o Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des NO2-



## **Nitrate**

o Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage des NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

Solution de chlorure d'ammonium

## Produit utilisé

- Chlorure d'ammonium (NH<sub>4</sub>Cl).

# **Préparation**

- Dissoudre 240 g de NH4Cl dans 700 ml d'eau distillée ;
- Mélanger puis compléter à 1000 ml;
- Conserver la solution dans un flacon en plastique à température ambiante.
- Solution stable indéfiniment à température ambiante.

# Solution d'hydroxyde de sodium Produit utilisé

- Hydroxyde de sodium (NaOH).

# Préparation

- Dissoudre 17 g de NaOH dans 800 ml d'eau distillée ;
- Mélanger puis compléter à 1000 ml;
- Conserver la solution dans un flacon en plastique à température ambiante.
- Solution stable indéfiniment à température ambiante.

## Orthophosphate

o Composition et préparation des réactifs nécessaires au dosage

# Solution d'acide ascorbique

#### Produits utilisés

- Acide ascorbique (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>).

## **Préparation**

- Pour la préparation de l'acide sulfurique à 2,9 mol/L.
  - Ajouter 160 ml d'acide sulfurique dans 800 ml d'eau distillée ;
  - Mélanger puis compléter à 1000 ml;
  - Solution stable indéfiniment à température ambiante.
- -Pour la préparation de la solution d'acide ascorbique.
  - Dans 100 ml d'acide sulfurique (2,9 mol/L), dissoudre 5 g d'acide ascorbique ;
  - Conserver la solution à 4 °C et à l'abri de la lumière ;
  - Solution stable pendant quelques semaines.

## Solution acide de molybdène et d'antimoine

#### Produits utilisés

- Heptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 4 H<sub>2</sub>O).
- Oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium (K<sub>2</sub>Sb<sub>2</sub> (C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>O<sub>12</sub>), 3H<sub>2</sub>O).

## **Préparation**

- Dans 450 ml d'acide sulfurique (2,9 mol/L), dissoudre 13 g d'héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ;

- Dissoudre 0,3 g d'oxytartrate d'antimoine (III) et de potassium dans 50 ml d'eau distillée, mélanger puis l'ajouter à la solution d'héptamolybdate d'ammonium tétrahydraté ;
- Conserver la solution à température ambiante.
- Solution stable pendant plusieurs mois.

# o Composition et préparation de la solution étalon d'PO<sub>4</sub>-3

# Solution étalon concentrée d'orthophosphate à 5 000 µmol/L

## Produit utilisé

- Dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH2PO4).

## **Préparation**

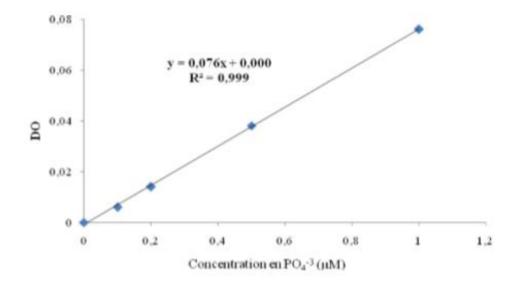
- Sécher le dihydrogénophosphate de potassium à 105 °C pendant 1 heure ;
- Dissoudre 0,6805 g dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Conserver à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Solution stable pendant une année.

# Solution étalon diluée d'orthophosphate à 50 µmol/L

# Préparation

- Diluer 100 fois la solution étalon concentrée pour obtenir la solution étalon diluée ;
- Solution se conserve quelques jours au réfrigérateur.

# o Représentation graphique de la courbe d'étalonnage des PO<sub>4</sub>-3







# **Mediterranean Marine Science**

Vol. 0



Insights into the species diversity of the genus Sargassum (Phaeophyceae) in the Mediterranean Sea, with a focus on a pre-viously unnoticed taxon from Algeria

AOUISSI MOUNIA Laboratoire Bioressources

Marines, Université Badji-

Mokhtar, BP 12, El-Hadjar,

23000 An-naba

SELLAM LOUIZA Laboratoire

d'Océanographie Biologique et Environnement Marin (LOBEM), Faculté des Sciences Biologiques (FSB), Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumédiène, BP 32 El-Alia, 16111 Bab Ezzouar, Algiers Aix-Marseille University,

BOUDOURESQUE

CHARLES

University of Toulon, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Campus of Luminy, 13288

Marseille

BLANFUNÉ AURELIE Aix-Marseille University,

University of Toulon, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Campus of Luminy, 13288

Marseille

DERBAL FARID Laboratoire Bioressources

Marines, Université Badji-Mokhtar, BP 12, El-Hadjar,

23000 An-naba

FRIHI HOCINE Laboratoire Bioressources

Marines, Université Badji-Mokhtar, BP 12, El-Hadjar,

23000 An-naba

PERRET-BOUDOURESQUE

MICHELE

Aix-Marseille University, University of Toulon, CNRS, IRD, Mediterranean Institute

of Oceanography (MIO), Campus of Luminy, 13288

Marseille

REBZANI-ZAHAF CHAFIKA Laboratoire

d'Océanographie Biologique et Environnement Marin

(LOBEM), Faculté des

Sciences Biologiques (FSB), Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumédiène, BP 32 El-Alia,

16111 Bab Ezzouar, Algiers

VERLAQUE MARC Aix-Marseille University,

University of Toulon, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Campus of Luminy, 13288

Marseille

THIBAUT THIERRY Aix-Marseille University,

University of Toulon, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Campus of Luminy, 13288

Marseille

http://dx.doi.org/10.12681/mms.14079

Copyright © 2017 Mediterranean Marine Science



#### To cite this article:

AOUISSI, M., SELLAM, L., BOUDOURESQUE, C., BLANFUNÉ, A., DERBAL, F., FRIHI, H., PERRET-BOUDOURESQUE, M., REBZANI-ZAHAF, C., VERLAQUE, M., & THIBAUT, T. (2018). Insights into the species diversity of the genus Sargassum (Phaeophyceae) in the Mediterranean Sea, with a focus on a pre-viously unnoticed taxon from Algeria. *Mediterranean Marine Science*, *0*, 48-57. doi:http://dx.doi.org/10.12681/mms.14079

Mediterranean Marine Science Indexed in WoS (Web of Science, ISI Thomson) and SCOPUS The journal is available online at http://www.medit-mar-sc.net DOI: http://dx.doi.org/10.12681/mms.14079

# Insights into the species diversity of the genus *Sargassum* (Phaeophyceae) in the Mediterranean Sea, with a focus on a previously unnoticed taxon from Algeria

MOUNIA AOUISSI¹, LOUIZA NESRINE SELLAM²³, CHARLES F. BOUDOURESQUE³, AURÉLIE BLANFUNɳ, FARID DERBAL¹, HOCINE FRIHI¹, MICHÈLE PERRET-BOUDOURESQUE³, CHAFIKA REBZANI-ZAHAF², MARC VERLAQUE³ and THIERRY THIBAUT³

<sup>1</sup>Laboratoire Bioressources Marines, Université Badji-Mokhtar, BP 12, El-Hadjar, 23000 Annaba, Algeria
 <sup>2</sup>Laboratoire d'Océanographie Biologique et Environnement Marin (LOBEM), Faculté des Sciences Biologiques (FSB), Université des Sciences et de la Technologie Houari-Boumédiène, BP 32 El-Alia, 16111 Bab Ezzouar, Algiers, Algeria
 <sup>3</sup>Aix-Marseille University, University of Toulon, CNRS, IRD, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO), Campus of Luminy, 13288 Marseille, France

Corresponding author: charles.boudouresque@mio.osupytheas.fr Handling Editor: Konstantinos Tsiamis

Received: 12 June 2017; Accepted: 10 October 2017; Published on line: 26 April 2018

#### Abstract

Nine species of the genus Sargassum (Phaeophyceae; kingdom Stramenopiles) are currently accepted in the Mediterranean Sea: S. acinarium, S. desfontainesii, S. flavifolium, S. furcatum, S. hornschuchii, S. muticum, S. ramentaceum, S. trichocarpum and S. vulgare. Sargassum desfontainesii and S. furcatum are Atlantico-Mediterranean species. Sargassum hornschuchii, S. ramentaceum and S. trichocarpum are endemic to the Mediterranean. The presence of the Atlantic S. flavifolium in the Mediterranean is at least in part based upon a misidentification and therefore requires confirmation. Near Algiers and Annaba (Algeria), a Sargassum taxon sharing most characters with S. flavifolium was collected. This taxon, referred to as the Algerian Sargassum sp., is described and illustrated. Its distribution and ecology in Algeria are presented. This taxon differs from S. flavifolium in having costate, small-sized neceptacles, branched in all directions and lacking a branched sterile pedicel at the base. In the absence of genetic data, and a study of the type material of S. flavifolium, syntype localities: West Indies (Antilles) and Biarritz, a description of a new taxon would be premature.

Keywords: Algeria, Mediterranean Sea, Phaeophyceae, Sargassum flavifolium, Sargassum spp.

#### Introduction

The genus Sargassum C. Agardh is one of the most species-rich genera among the Fucales (Phaeophyceae, kingdom Stramenopiles; for taxonomic treatment see references in Boudouresque, 2015), with 354 taxa (species and infraspecific taxa) currently accepted (Guiry & Guiry, 2017). Most Sargassum taxa are tropical and subtropical. In the Mediterranean Sea, nine species of Sargassum have been reported (Table 1): Sargassum acinarium (Linnaeus) Setchell, S. desfontainesii (Turner) C. Agardh, S. flavifolium Kützing, S. furcatum Kützing, S. hornschuchii C. Agardh, S. muticum (Yendo) Fensholt, S. ramentaceum Zarmouh & Nizamuddin, S. trichocarpum J. Agardh and S. vulgare C. Agardh (Ribera et al., 1992; Cormaci et al., 2012). Sargassum salicifolium (J. Agardh) J. Agardh sensu lato and infraspecific taxa of S. vulgare (see e.g. Špan, 2005), which are of uncertain taxonomic status (Ribera et al., 1992), are not taken into consideration here. Sargassum hornschuchii, S. ramentaceum and S. trichocarpum have only been recorded in the Mediterranean Sea (Guiry & Guiry, 2017) and are putatively endemic to this area.

Sargassum species can form extensive marine forests that are major components of the underwater seascape and coastal ecosystems (Komatsu & Murakami, 1994; Yatsuya et al., 2007; Komatsu et al., 2014; Boudouresque et al., 2016). In some regions, Sargassum species are undergoing a very severe decline due to overgrazing by herbivores (a cascading effect of overfishing), invasive species such as the herbivorous teleosts Siganus spp., habitat destruction, trawling and net fishing, eutrophication and an increase in water turbidity (Thibaut et al., 2005; Airoldi & Beck, 2007; Tsiamis et al., 2013a; Bianchi et al., 2014; Vergés et al., 2014; Thibaut et al., 2015, 2016; Gatti et al., 2017).

In Algeria, four species have been listed, namely *S. acinarium, S. hornschuchii, S. trichocarpum* and *S. vulgare* (Perret-Boudouresque & Seridi, 1989; Ribera *et al.*, 1992). Here, we report on a species belonging to *Sargassum*, occurring in Algeria (southwestern Mediterranean Sea), which does not correspond to any of the nine species reported from the Mediterranean Sea. We also highlight the likely underestimation of the *Sargassum* diversity in the Mediterranean Sea.

Medit. Mar. Sci., 19/1, 2018, 48-57

Table 1. Distribution of currently accepted taxa (according to Guiry & Guiry, 2017) of the genus *Sargassum* in the Mediterranean Sea and Black Sea (data from Ribera *et al.*, 1992; and updated as by Ben Maiz *et al.*, 1987; Zarmouh & Nizamuddin, 1991; González García & Conde, 1992; Ribera *et al.*, 1996; Curiel *et al.*, 1998; Flores Moya & Conde 1998; Benhissoune *et al.*, 2002; Cormaci *et al.*, 2012; Verlaque *et al.*, 2015; Guiry & Guiry, 2017). +: present; -: not recorded. Sp: continental Spain; BI: Balearic Islands (Spain); Fr: continental France; CS: Corsica (France) and Sardinia (Italy); WI: Western Italy; Si: Sicily (Italy) and adjacent islands; Ad: Adriatic Sea, including Albania; Gr: Greece; BS: Black Sea and Azov Sea; Tu: Turkey (Sea of Marmara and Mediterranean coast); LS: Levant states (Lebanon, Syria and Israel); Eg: Egypt; Li: Libya; Tn: Tunisia; Ag: Algeria; Mo: Morocco (including Spanish territories, e.g. Chafarinas islands).

Taxon	Sp	BI	Fr	CS	WI	Si	Ad	Gr	BS	Tu	LS	Eg	Li	Tn	Ag	Mo
Sargassum acinarium (Linnaeus) Setchell		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Sargassum desfontainesii (Turner) C. Agardh		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Sargassum flavifolium Kützing		-	-	+ a	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
Sargassum furcatum Kützing		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Sargassum hornschuchii C. Agardh	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
Sargassum muticum (Yendo) Fensholt	+ b	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sargassum ramentaceum Zarmouh & Nizamuddin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ c	+	-	-	-
Sargassum trichocarpum J. Agardh		-	+ d	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-
Sargassum vulgare C. Agardh	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Based upon a misidentification; see text. <sup>b</sup> Only drift material of *S. muticum* has been found. <sup>c</sup> In the framework of the study of the marine benthos of El Dabaa (Egypt) (Campos-Villaça *et al.*, 1985; Thélin *et al.*, 1985), an unidentified species of *Sargassum* was collected; the specimens have subsequently been referred to as *S. ramentaceum* (Marc Verlaque, unpublished data). <sup>d</sup> Only observed once, in the plume of warm water from a thermal power plant (Verlaque, 1977); this power plant only operates intermittently today, so that the species may be no longer present.

## **Material and Methods**

Specimens belonging to the study species (hereafter the Algerian *Sargassum* sp.) were recorded along the central and the eastern coasts of Algeria, near Algiers and Annaba, in 2014 and 2015.

Near Algiers, dense patches of the studied species were observed in shallow reef habitats, 0-0.5 m depth, within *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin forests at El Marsa (36° 48' 41.3" N, 3° 15' 23.5" E; coordinate system: WGS 84); collected specimens (collector: LNS): H8320, H8321 and H8322 (27 June 2015). The depth '0' means the limit between the midlittoral and the infralittoral zones *sensu* Pérès & Picard (1964).

Near Annaba (eastern Algeria), isolated individuals of the Algerian *Sargassum* sp. were found thriving in an exposed photophilic community, at Cap de Garde (entrance of the Gulf of Annaba; 36° 58' 4.34" N, 7° 47' 30.06" E); collected specimens (collector: MA): H8323 (29 August 2014). The species was thriving on shallow reefs, from the sea surface down to 0.5 m depth, associated with *Cladostephus spongiosum* (Hudson) C. Agardh, *Cystoseira amentacea* (C. Agardh) Bory, *Cystoseira compressa, Halopteris scoparia* (Linnaeus) Sauvageau (Phaeophyceae), *Corallina caespitosa* R.H. Walker, J. Brodie & L.M. Irvine, *Chondracanthus acicularis* (Roth) Fredericg, *Jania rubens* (Linnaeus) Lamouroux (Florid-

eophyceae, Rhodobionta, kingdom Archaeplastida) and *Caulerpa cylindracea* Sonder (Ulvophyceae, Viridiplantae, kingdom Archaeplastida).

The material studied has been deposited at the HCOM, the Herbarium of the Mediterranean Institute of Oceanography, Aix-Marseille University. Herbarium abbreviations follow Thiers (2016).

Specimens of the Algerian *Sargassum* sp. were compared with the collection of Mediterranean *Sargassum* species deposited in the HCOM and with the following specimens of genuine *S. flavifolium* deposited in the herbarium of the Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, PC:

- PC0527409, Biarritz, June 1830, coll. Heribaud;
- PC0539255, PC0539256 and PC0458533, Guéthary, 10 July - 30 August 1896, coll. C. Sauvageau;
- PC0527408, Guéthary [France, NE Atlantic Ocean], 17 July 1921, coll. C. Sauvageau;
- PC0527407, Guéthary [France, NE Atlantic Ocean], 25 July 1923, coll. C. Sauvageau;
- PC0458528, Herbier J. Feldmann, Guéthary [France, NE Atlantic Ocean], 3 October 1928;
- PC0458529, Herbier J. Feldmann, between Guéthary and Bidart [France, NE Atlantic Ocean], 15 August 1927;

Medit. Mar. Sci., 19/1, 2018, 48-57

- PC0458530, Pointe Sainte Barbe, Saint Jean de Luz [France, NE Atlantic Ocean], 16 July 1927, coll. J. Feldmann:
- PC0458531, between Guéthary and Bidart [France, NE Atlantic Ocean], 21 July 1927, coll. J. Feldmann;
- PC0458532 and PC0458534, Pointe Sainte Barbe, Saint Jean de Luz [France, NE Atlantic Ocean], 1<sup>st</sup> August 1927, coll. J. Feldmann;
- PC0527404, Herbier Rob. Lami, algues marines, col. P. Arné, Guéthary [France, NE Atlantic Ocean], July 1938.

#### **Results and Discussion**

The studied specimens of the Algerian Sargassum sp. (Table 2) measure between 15 and 30 cm in height, have a short main axis, smooth or scarred, 0.5-1.0 cm in length, fixed to the substratum by a small basal disc; primary and secondary branches cylindrical and smooth, up to 30 cm long and 6 cm long respectively; leaves (foliaceous branches) with a very short (< 1 mm) petiole; they are lanceolate, up to 35 mm long and 3-4 mm wide (Fig. 1), unbranched, with a midrib, an acute extremity and numerous marginal acute teeth. At the base of the leaf gas vesicles (aerocysts) and receptacles can be found; gas vesicles spherical, 2-4 mm in diameter, at the end of a slender pedicel 1-3 mm long, rarely surmounted with a short mucron (Figs 2-4); receptacles are fertile down to close to their base, the sterile pedicel being short or absent. The receptacles are branched in all directions, thickset, short, up to 3-6 mm long, with branches cylindrical, muriculate, warty and sometimes bifurcate at the extremity; some receptacles can show either an air vesicle or a small leaf, inserted between fertile parts (Figs 2-4). The studied specimens were monoecious. Fertile individuals were found from spring to late summer.

The Algerian Sargassum sp. can be easily distinguished from most of the nine species previously recorded in the Mediterranean Sea (Table 2), e.g. (i) by the presence of leaves (lacking in S. desfontainesii, or unconspicuous to costate in S. ramentaceum), (ii) the presence of a midrib in leaves (absent in S. muticum), (iii) the small size of the leaves (much longer and wider in S. hornschuchii, and up to 10 cm long and filiform in S. ramentaceum), (iv) the unbranched leaves (branched up to 4 times in S. furcatum), (v) the absence of a true branched sterile pedicel at the base of the receptacles (present in S. acinarium and S. vulgare), and (vi) the small size of the receptacles (much longer in S. trichocarpum). The closest species to the Algerian Sargassum sp., on the basis of the morphology, seems to be S. flavifolium, a species originally described from the Bay of Biscay and the West Indies (Antillas) (Kützing, 1849) (Fig. 5); however, in the latter, leaves and gas vesicles are slightly larger (Table 2). Clear-cut differences concern the receptacles (Figs 2-4 vs. Fig. 5); in the Algerian Sargassum sp., these are muriculate (rather than smooth), branched in all directions (rather than complanate and mainly branched

in one plane). Small leaves and gas vesicles can be inserted sometimes between the fertile parts ('zygocarpic receptacle'), a feature not mentioned in the descriptions of *S. flavifolium*. On the basis of the latter character, the Algerian specimens would be referred to the sectio *Zygocarpicae* (J. Agardh) Setchell of the genus *Sargassum* and subgenus *Sargassum* (see Mattio & Payri, 2011, for infrageneric delineation of *Sargassum* taxa). However, a few zygocarpic receptacles were observed in some herbarium specimens of *S. flavifolium* collected by Camille Sauvageau at Guéthary (Bay of Biscay, France) (Figs 6-8) and housed at PC (PC0539255, PC0539256). A similar zygocarpic receptacle was also drawn by Gruet (1983) from a specimen of *S. flavifolium* collected in Arcachon Bay (Bay of Biscay, France).

Sargassum flavifolium has long been known from the Bay of Biscay (European Atlantic Ocean) (Kützing, 1861; Sauvageau, 1897; Hamel, 1931-1939; Parriaud, 1959; Gruet, 1983; Casares Pascual, 1989; Gómez Gareta et al., 2001; Fernández & Sánchez, 2002; Gorostiaga et al., 2004; Dizerbo & Herpe, 2007; Cires Rodríguez & Cuesta Moliner 2010). It has also been recorded in Andalusia and Extremadura (Atlantic Spain) (Bárbara et al., 2012; Gallardo et al., 2016), Atlantic Morocco (Benhissoune et al., 2002) and in the Canary Islands (Børgesen, 1926; Sangil et al., 2015; Gallardo et al., 2016). In the Mediterranean Sea, S. flavifolium was first reported from Corsica (Verlaque & Boudouresque, 1981; Boudouresque & Perret-Boudouresque, 1987). The species has also been mentioned from different Mediterranean regions: Provence, France (Verlaque & Boudouresque, 1981; Thibaut et al., 2016), Italy (Giaccone, 1969; Giaccone et al., 1985), Greece (Tsekos et al., 1982) and Tunisia (Ben Maiz et al., 1987). However, it has never been recorded in Algeria (see e.g. Perret-Boudouresque & Seridi, 1989; Ould-Ahmed et al., 2013). Outside the European and African NE Atlantic Ocean, and possibly (see below) the Mediterranean Sea, S. flavifolium has been reported (as Sargassum flavefolium – sic) from the Saudi Arabian coast of the Persian Gulf (Abdel-Kareem, 2009); in the absence of an accurate description of the collected specimens, this record requires confirmation. The identity of the West Indies specimens mentioned in the protologue requires further investigation.

Mediterranean records of *S. flavifolium* are questionable. A re-examination of specimen HF.1184 from Corsica (Lavezzi Islands), recorded and described by Verlaque & Boudouresque (1981) and housed at the HCOM herbarium, shows that it actually belongs to *S. vulgare*. For the other Mediterranean records of *S. flavifolium* (Giaccone, 1969; Tsekos *et al.*, 1982; Giaccone *et al.*, 1985; Ben Maiz *et al.*, 1987), no description is available. The presence of *S. flavifolium* in the Mediterranean Sea therefore requires confirmation.

All in all, *S. flavifolium* would appear to be a north-eastern Atlantic species, known from the Bay of Biscay to the Canary Islands. Along the Algerian coast, a previously unrecorded species of the *Sargassum*, mor-

**Table 2.** Morphological and reproductive characters of the Mediterranean species of the genus *Sargassum* (according to Hamel 1931-1939; Gómez Garreta *et al.*, 2001; Cormaci *et al.*, 2012), and of the Algeria *Sargassum* sp. When details come from other authors, this is mentioned in a footnote. Leaves are often named 'foliaceous branches' (e.g. by Gómez Garreta *et al.*, 2001; Cormaci *et al.*, 2012).

Characters	S. acinarium	S. desfontainesii	S. flavifolium	S. furcatum	S. hornschuchii	S. muticum	S. ramentaceum	S. trichocar-	S. vulgare	Algerian Sargassum
Basionym (if different from the accepted name)	Fucus acinarius Linnaeus	Fucus desfontainesii Turner	-	-	-	Sargassum kjellmanianum Yendo f. muti- cum Yendo	-	- -	-	- -
Type locality	'Italia & Oceano australiori'	Canary Islands	Biarritz (Bay of Biscay) <sup>a</sup>	St Thomas, Virgin Islands	'In mari Adriatico prope Parenzo Istriae'	Izumo, Wakayama Prefecture, Japan	Guilli- ana-Benghazi, Libya	'E Gadibus' (today: Cádiz, Spain)	(Ad litora Oceani Atlantici; ex India Occiden- tali'	-
Size (height) in cm	Up to 100	Up to 100	Up to 50	Up to 35	Up to 50	Up to 200, sometimes more	Up to 91	Up to 50	Up to 70	Up to 30 (Fig. 1)
Main axis (above the basal disc)	Several centimetres long	(1)3-8(15) main axes, cylindrical, 0.5-4.7 cm long, 2-4(7) mm in diame- ter, verrucose	1-2 cm long, smooth or with scars	Numerous short axes, smooth <sup>b</sup>	2-5 cm long, cylindrical, verrucose	Single axis, up to 2 cm long, 2-3 mm in diameter, smooth °	Up to 6.0 cm long, com- pressed, up to 6 mm in cross section, with smooth apex	Up to 3.5 cm <sup>d</sup>	2-4 cm long	0.5-1.0 cm long, smooth or with scars
Primary branches	Well de- veloped, cylindrical, rough- muriculate	Cylindrical, 1-2 mm in diameter, up to 50 cm long, smooth	Well developed, cylindrical, smooth or rarely spinose	5-7 cm long, muriculate	10-50 cm long, flattened or winged near the base	Cylindrical	Cylindrical, up to 6 cm long, 3-4 mm in diameter	Cylindrical, smooth, rarely muriculate	Well developed, cylindrical, 2 mm in diameter, smooth or muriculate in the young parts	Up to 30 cm long, cylindrical and smooth
Leaves: present or absent	present	absent	present	present	present	present	present	present	present	present
Leaf midrib: present or absent	present	-	present	present	present	absent	Unconspicu- ous to costate	present	present and very prom- inent	present
Leaf size (length x width)	30-80 mm x 3-8 mm	-	30-70 mm x 2-6 mm	15-50 mm x 2-5 mm	40-80 mm x 5-15 mm	30 mm x 3-4 mm in basal parts, much smaller in up- per parts	Up to 100 mm x 3 mm	30-50 mm x 2-4(10) mm	15-40 mm x 2-4 mm	30-35 mm x 3-4 mm
Leaf shape	Acute, with serrated margin	-	Acute, with wavy and toothed margin	Branched up to 4 times, with or without teeth	With or without very small teeth	Lanceolate, without teeth or slightly toothed	Sessile, lin- ear, narrow, lanceolate, strongly ser- rato-dentate	Wavy or toothed margin	Lanceolate, serrate or slightly wavy mar- gins	Lanceolate, acute, with toothed margins and a short petiole
Gas vesicles (aerocysts)	Spherical, 4-6 mm in diameter, pedicel 3-5 mm long, without mucron °	Spherical- oblong, 2-6 mm in diameter, with a mucron	Spherical, 4-6 mm in diameter, pedicel 3-5 mm long, sometimes with a mu- cron	Spherical, 3-4 mm in diameter, pedicel 1-2 mm long, without a mucron	Spherical, 3-8 mm in diameter, short pedicel, sometimes with a short mucron	Spherical, 3 mm in diameter, short pedicel, sometimes with a short mucron	Spherical, without mucron, up to 6 mm in diameter, pedicel compressed and spinose, up to 7 mm long	Spherical or slightly elongated, 4-5 mm in diameter, pedicel 3-5 mm long, with mucron <sup>f</sup>	Spherical, 3-5 mm in diameter, with a short pedicel and without mucron	Spherical, 2-4 mm in diameter, a slender pedicel 1-3 mm long, sometimes with a short mucron
Receptacles with or without (i.e. sessile) a sterile pedicel	with a pedicel	with a pedicel	without pedicel	without pedicel	with a branched pedicel	with a short pedicel	with a branched pedicel	without pedicel (or a very short pedicel)	with a cylindrical, branched pedicel	without (or with a very short) sterile pedicel

continued

#### continued

Characters	S. acinarium	S. desfontainesii	S. flavifolium	S. furcatum	S. hornschuchii	S. muticum	S. ramentaceum	S. trichocar- pum	S. vulgare	Algerian Sargassum sp.
Shape of the receptacles	Fertile branch up to 50 mm, receptacles cylindrical, 10-20 mm long, un- branched or branched or once	Fertile branch up to 27 mm, branched, bearing up to 12 receptacles	Receptacles alternately branched in one plan, 3-8 mm long, non muriculate	Receptacles branched, up to 30 mm long, upper branches cylindrical	Fertile branch up to 50 mm, receptacles flattened or triangular in section, with toothed margin	Receptacles not-branched (sometimes dichotomous), cylindrical, 10-12 mm long, 1-2 mm in diameter	Receptacles simple or branched, cylindrical, verrucose, submonili- form, up to 6 mm long, 1-2 mm in diameter	Receptacles cylindrical, branched, 10-20 mm long and I mm in diameter	Receptacles branched, 3-10 mm long, fusiform	Receptacles branched in all directions, thickset, some branches developing small leaves and gas vesicles, cylindrical, muriculate, 3-6 mm long
Male vs female receptacles	Data missing	Receptacles with both male and female conceptacles more irregular than only male receptacles.	Plants monoe- cious	Data missing	Plants monoecious	Plants monoecious	Data missing	Plants monoecious	Plants dioecious (rarely monoe- cious)	Plants monoe- cious
Concepta- cles	Data missing	Female conceptacles larger than male ones	Concepta- cles unisexual	Data missing	Conceptacles unisexual, more rarely hermaphrodite	Unisexual male and female conceptacles present within a given receptacle	Unisexual	Conceptacles unisexual	Concepta- cles unisexual	Concepta- cles unisexu- al or hermaphro- dites

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Kützing (1849) mentioned 'Ad Antillas; in sinu Biscayense ad Biaritz'; afterwards, he only mentioned 'Ad Biaritz in sinu Biscayensis' (Kützing, 1861), probably correcting his earlier) error. <sup>b</sup> Smooth: from Kützing (1843). <sup>c</sup> Smooth: from Gerbal (1986). <sup>d</sup> Measured on the herbarium specimen H.6683, from Martigues-Ponteau (Provence, France), HCOM. <sup>c</sup> Measured on herbarium specimens H.6636-H.6640 from Santorini Island, Greece, HCOM. <sup>f</sup> Observed on the specimen PC0459635 from Naples (Italy), PC.



*Figs 1-4:* Pressed specimen H8320 of the Algerian *Sargassum* sp., collected by L.N. Sellam at El Marsa, Algiers, 27 June 2015. Fig. 1. Habit; bar = 1 cm. Fig. 2. Upper part of a fertile branch (arrow heads = receptacles); bar = 1 cm. Fig. 3. Detail of the arrangement of gas vesicles (aerocysts) and receptacles on a branch; bar = 5 mm. Fig. 4. Detail of a composite receptacle with fertile branches and gas vesicles (arrow head = terminal mucron); bar = 5 mm.



Fig. 5: Illustrations of Sargassum flavifolium Kützing from Kützing (1861, plate 26), Biarritz, Bay of Biscay, France: a. Habit; b. Receptacle.

*Figs 6-8*: Pressed specimen PC0458534 of *S. flavifolium* collected by J. Feldmann at Saint Jean de Luz, Bay of Biscay, France, 1st August1927, and deposited at the Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris; bar = 2 cm. Fig. 7. Details of gas vesicles; bar = 5 mm.

Fig. 8: Details of receptacles; bar = 5 mm.

phologically close to *S. flavifolium* but presenting some unequivocal differences, is widely distributed and not uncommon.

With a few exceptions (e.g. Garreta *et al.* 2001; Špan, 2005), the species diversity of the genus *Sargassum* in the Mediterranean Sea has been poorly studied, since the pioneering work of Hamel (1931-1939). In the southern and eastern Mediterranean Sea, there are only checklists that name taxa without proper taxonomic identification (i.e. description or illustrations) (e.g. Diannelidis *et al.*, 1977; Taşkın & Öztürk, 2013; Tsiamis *et al.*, 2013a,

2013b, 2014). In their Mediterranean Flora of Phaeophyceae, Cormaci *et al.* (2012) only reproduce previous descriptions and illustrations from Kützing (1849, 1861) and Hamel (1931-1939).

In fact, in the Mediterranean Sea, a warm-temperate sea, the species diversity of the genus *Sargassum*, a genus with warm affinities, might be expected to be far greater than as currently assessed.

Within the genus *Sargassum*, nearly 350 taxa are currently accepted worldwide (Guiry & Guiry, 2017). Yet most taxonomic characters are elusive, often overlapping

Medit. Mar. Sci., 19/1, 2018, 48-57

among species, so that species delineation is a difficult, uncertain, and even scientifically hazardous task (Mattio & Payri, 2011). Genetic tools are therefore particularly welcome. On the basis of genetic studies, a reappraisal of the *Sargassum* taxonomy is now available in e.g. western and central Pacific islands, Korea, the Oman Sea, Australia and South Africa (Zhao *et al.*, 2007; Mattio *et al.*, 2008, 2009, 2010; Mattio & Payri, 2011; Noormohammadi *et al.*, 2011; Cho *et al.*, 2012; Dixon *et al.*, 2012, 2014; Dixon & Huisman, 2015; Mattio *et al.*, 2015). Unfortunately, this is not yet the case for the Mediterranean.

What is the status of the studied *Sargassum* species from Algeria? (i) a species hitherto ignored or confused with another Mediterranean taxon; (ii) an Atlantic species extending its range area and entering the Mediterranean Sea through the Strait of Gibraltar, in the context of the current global warming; (iii) a recently introduced species? The Mediterranean Sea is the marine area that harbours the highest number of introduced species worldwide (Ribera & Boudouresque, 1995; Galil, 2000; Boudouresque & Verlaque, 2002; Galil, 2008; Boudouresque *et al.*, 2011; Zenetos *et al.*, 2012, 2017). A set of criteria can be used to consider whether or not a species is probably introduced (Ribera & Boudouresque, 1995; Boudouresque, 1999); these criteria are not met by the Algerian *Sargassum* sp. populations.

Before describing a new species, we must examine the type material of *S. flavifolium* and of the other Mediterranean taxa belonging to the genus *Sargassum*, which although inadequately known, are at present regarded as synonyms. We also need to check the relationships between the Algerian *Sargassum* sp., the Atlantic species and the other species of the sectio *Zygocarpicae*, including putative synonyms, using both genetic markers and morphological characters (see e.g. Tseng & Baoren, 1988; Ajisaka *et al.*, 1995; Fujii *et al.*, 2014)

As far as the geographical distribution of the nine Mediterranean Sargassum species is concerned, a variety of different origins exist. Sargassum flavifolium seems to be restricted to a range from the Bay of Biscay to the Canary Islands, while the protologue also includes material from the Antilles; it is the species of Sargassum reported furthest northwards in Europe (Gruet, 1983); Mediterranean localities (Table 1) could result from misidentifications (see above). Sargassum acinarium is known from the western (Caribbean) and eastern (tropical West Africa and Canary Islands) Atlantic Ocean, and from the Mediterranean (Ribera et al., 1992; Littler & Littler, 2000; Gómez Garreta et al., 2001; John et al., 2004). This range of distribution is consistent with the dissemination of drift specimens of Sargassum by transoceanic currents, such as the Gulf Stream. Sargassum desfontainesii is present occurs on both sides of the North Atlantic Ocean, including the Canary Islands and the Azores, and is present only a short distance into the western Mediterranean (Alboran Sea, close to the Strait of Gibraltar) (Taylor, 1976; Price et al., 1978; González García & Conde, 1992). Sargassum furcatum has a very similar pattern of distribution

(Taylor, 1960; Flores-Moya & Conde, 1998; Benhissoune et al., 2002; Cruz-Reyes et al., 2003; Freitas Ferreira, 2011; Wynne, 2011). Sargassum hornschuchii, S. ramentaceum and S. trichocarpum are assumed to be endemic to the Mediterranean (Hamel, 1931-1939; Ben Maiz et al., 1987; Perret-Boudouresque & Seridi, 1989; Zarmouh & Nizamuddin, 1991; Ribera et al., 1992; Gómez Garreta et al., 2001). Sargassum muticum is native to Japan and has been introduced, via oyster aquaculture, to north-western America, western Europe and the Mediterranean Sea (Critchley et al., 1983; Knoepfler-Peguy et al., 1985; Ribera & Boudouresque, 1995; Verlaque et al., 2007). Finally, S. vulgare seems to be a cosmopolitan species, reported on both sides of the Atlantic Ocean, in the Mediterranean Sea, the Indian Ocean, Polynesia, Japan, Taiwan and other Pacific Ocean areas (Taylor, 1960; Price et al., 1978; Ribera et al., 1992; Silva et al., 1996; Gómez Garreta et al., 2001; Tsuda & Walsh, 2013; Phang et al., 2016; Guiry & Guiry, 2017). True cosmopolitan species are often species originating from a given area of the world ocean, which have subsequently been transported by man and introduced into all the other areas of their current world range (see e.g. Carlton, 1996). Nevertheless, most of the so-called cosmopolitan species are actually complexes including several cryptic species (see e.g. Belton et al., 2014; Dijoux et al., 2014; Zanolla et al., 2014), and S. vulgare could be such a case.

## Conclusions

Nine species of Sargassum are currently accepted in the Mediterranean Sea. This is probably an underestimation, as this genus, highly diversified in most warm and tropical seas, has been poorly studied in the Mediterranean, especially in the eastern and southern Mediterranean. Here, we have reported an undescribed species from Algeria that differs from the currently accepted taxa. Until further studies can be undertaken, including molecular analyses and thorough exploration of herbarium materials that contain early and poorly understood taxa (often regarded as synonyms), it seemed premature to formally describe it as a new species. Nevertheless, we thought it important not to delay drawing the attention of researchers to this plant), potentially present in other Mediterranean areas too. In addition, we have highlighted the possible underestimation of the diversity of the genus Sargassum in the Mediterranean, pending the achievement of the long-term objective of disentangling the taxonomy of the genus in the Mediterranean as a whole.

## Acknowledgements

The authors thank John M. Huisman, Athanasios Athanasiadis and an anonymous reviewer, together with the editors, Argyro Zenetos and Konstantinos Tsiamis, for their insightful suggestions. They also wish to thank Michael Paul, a native English speaker, for revising the English text. The project leading to this publication has

received funding from the European FEDER Fund under project 1166-39417. Finally, MA and LNS have received scholarships and travel grants from the Algerian government.

#### References

- Abdel-Kareem, M.S.M., 2009. Phenetic studies and new records of Sargassum species (Fucales, Phaeophyceae) from the Arabian Gulf of Saudi Arabia. Academic Journal of Plant Sciences, 2 (3), 173-181.
- Airoldi, L., Beck, M.W., 2007. Loss, status and trends for coastal marine habitats of Europe. Oceanography and Marine Biology: an annual Review, 45, 345-405.
- Ajisaka, T., Noro, T., Yoshida, T., 1995. Zygocarpic Sargassum species (subgenus Sargassum) from Japan. Taxonomy of Economic Seaweeds, 5, 11-44.
- Bárbara, I., Díaz Tapia, P., Peteiro, C., Berecibar, E., Peña, V. et al., 2012. Nuevas citas y aportaciones corológicas para la flora bentónica marina del Atlántico de la Península Ibéric". Acta Botánica Malacitana, 37, 5-32.
- Belton, G.S., Prud'homme Van Reine, W.F., Huisman J.M., Draisma, S.G.A., Gurgel, C.F.D., 2014. Resolving phenotypic plasticity and species designation in the morphologically challenging Caulerpa racemosa-peltata complex (Caulerpaceae, Chlorophyta). Journal of Phycology, 50, 32-54.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F., Verlaque, M., 2002. A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. II. Phaeophyceae. Botanica Marina, 45, 217-230.
- Ben Maiz, N., Boudouresque, C.F., Ouachi, F., 1987. Checklist of the benthic marine flora of Tunisia. Giornale Botanico Italiano, 121, 259-304.
- Bianchi, C.N., Corsini-Foka, M., Morri, C., Zenetos, A., 2014. Thirty years after: dramatic change in the coastal marine ecosystems of Kos Island (Greece), 1981-2013. Mediterranean Marine Science, 15 (3), 482-497.
- Børgesen, F., 1926. Marine algae from the Canary Islands. Especially from Teneriffe and Gran Canaria. II. Phaeophyceae. Biologiske Meddelelser, 6 (2), 1-112.
- Boudouresque, C.F., 1999. Introduced species in the Mediterranean: routes, kinetics and consequences. p. 51-72. In: Proceedings of the workshop on invasive Caulerpa species in the Mediterranean. MAP Technical Reports Ser., UNEP publ., Athens.
- Boudouresque, C.F., 2015. Taxonomy and phylogeny of unicellular eukaryotes. p. 191-257. In: Environmental microbiology: Fundamentals and applications. Microbial ecology. Bertrand, J.C., Caumette, P., Lebaron, P., Matheron, R., Normand, P., Sime-Ngando, T. (Eds). Springer publ., Dordrecht.
- Boudouresque, C.F., Perret-Boudouresque, M., 1987. Checklist of benthic marine algae of Corsica. GIS Posidonie publ., Marseille, 121 pp.
- Boudouresque, C.F., Verlaque, M., 2002. Biological pollution in the Mediterranean Sea: invasive versus introduced macrophytes. Marine Pollution Bulletin, 44, 32-38.
- Boudouresque, C.F., Klein, J., Ruitton, S., Verlaque, M., 2011. Biological Invasions: the Thau La-goon, a Japanese biological island in the Mediterranean Sea. p. 151-156. In: Global change: mankind-marine environment interactions. Ceccaldi, H.J., Dekeyser, I., Girault, M., Stora, G. (Eds). Springer publ., Netherlands.
- Boudouresque, C.F., Blanfuné, A., Harmelin-Vivien, M., Personnic, S., Ruitton, S. *et al.*, 2016. Where seaweed forests

- meet animal forests: the examples of macroalgae in coral reefs and the Mediterranean coralligenous ecosystem. p. 1-28. In: Marine animal forests. Rossi, S. (Ed). Springer International Publishing, Switzerland.
- Campos-Villaça, R., Bergin, F., Boudouresque, C.F., Thelin, I., 1985. Le benthos littoral d'El Dabaa (Méditerranée, Egypte). III. Les peuplements algaux photophiles de substrat dur. Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration de la Mer Méditerranée, 29 (5), 249-252.
- Carlton, J.T., 1996. Biological invasions and cryptogenic species. Ecology, 77 (6), 1653-1655.
- Casares Pascual, C., 1989. Catalogo de la flora bentonica marina de la costa de Guipuzcoa. Bulletin du Centre d'Etudes et de Recherches Scientifiques, Biarritz, 15 (3), 83-118.
- Cho, S.M., Lee, S.M., Ko, Y.D., Mattio, L., Boo S.M., 2012. Molecular systematic reassessment of Sargassum (Fucales, Phaeophyceae) in Korea using four gene regions. Botanica Marina, 55 (5), 474-484.
- Cires Rodríguez, E., Cuesta Moliner, C., 2010. Checklist of benthic algae from the Asturias coast (North of Spain). Boletín de Ciencias de la Naturaleza, Real Instituto de Estudios Asturianos, 51, 135-212.
- Cormaci, M., Furnari, G., Catra, M., Alongi, G., Giaccone, G., 2012. Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae. Bollettino dell'Accademia Gioenia di Scienze Naturali, 45 (375), 1-508.
- Critchley, A.T., Farnham, W.F., Morrell, S.L., 1983. A chronology of new European sites of attachment for the invasive brown alga, Sargassum muticum. 1973-1981. Journal of the Marine Biological Association of the U.K., 63, 799-811.
- Cruz-Reyes, A., Parente, M.I., Aldanondo-Aristizabal, N., Gil-Rodríguez, M.C., Moreira-Reyes, A., 2003. Resultados de la expedición Macaronesia 2000: flora y vegetación bentónica del Parque natural del Archipiélago Chinijo (Islas Canarias). Revista de la Academia Canaria de Ciencias, 15 (3-4), 257-278.
- Curiel, D., Bellemo, G., Marzocchi, M., Scattolin, M., Parisi, G., 1998. Distribution of introduced Japanese macroalgae Undaria pinnatifida, Sargassum muticum (Phaeophyta) and Antithamnion pectinatum (Rhodophyta) in the Lagoon of Venice. Hydrobiologia, 385, 17-22.
- Diannelidis, T., Haritonidis, S., Tsekos, I., 1977. Contribution à l'étude des peuplements des algues benthiques de quelques régions de l'île de Rhodos, Grèce. Botanica Marina, 20, 205-226.
- Dijoux, L., Viard, F., Payri, C., 2014. The more we search, the more we find: discovery of a new lineage and a new species complex in the genus Asparagopsis. Plos One, 9 (7), 1-13 (e103826).
- Dixon, R.R.M., Huisman, J.M., 2015. Fucales. p. 245-275. In: Algae of Australia: Marine Benthic Algae of North-western Australia, 1. Green and Brown Algae. ABRS, Canberra; CSIRO Publishing, Melbourne.
- Dixon, R.R.M., Huisman, J.M., Buchanan, J., Gurgel, C.F., Spencer, P. 2012. A morphological and molecular study of austral Sargassum (Fucales, Phaeophyceae) supports the recognition of Phyllotricha at genus level, with further additions to the genus Sargassopsis. Journal of Phycology, 48, 1119-1129.
- Dixon, R.R.M., Mattio, L., Huisman, J.M., Payri, C.E., Bolton, J.J., Gurgel, C.F. 2014. North meets south Taxonomic and biogeographic implications of a phylogenetic assessment of Sargassum subgenera Arthrophycus and Bactrophycus. Phycologia, 53, 15-22.
- Dizerbo, A.H., Herpe, E., 2007. Liste et répartition des algues

- marines des côtes françaises de la Manche et de l'Atlantique, Iles Normandes incluses. Éditions Anaximandre, Landernau.
- Fernández, C., Sánchez, Í., 2002. Presencia de Sargassum flavifolium Kützing (Sargassaceae), en la costa de Asturias (Norte de España). Anales del Jardín Botánico de Madrid, 59 (2), 336.
- Flores Moya, A., Conde F., 1998. Fragmentos taxonómicos, corológicos, nomenclaturales y fitosociológicos (67-74). Acta Botanica Malacitana, 23, 197-228.
- Freitas Ferreira, S.J., 2011. Contributo para o estudo das macroalgas do intertidal da ilha da Madeira. Diversidade, distribução e sazonalidade. Dissertação da mestrado, Universidade da Madeira, Portugal, 112 pp.
- Fujii, T., Watanabe, K., Nishihara, C., Obuchi, M., Ohba, H., 2014. The giant brown alga Sargassum carpophyllum on a nearshore coral reef in Okinawa Island, Japan. Marine Biodiversity, 45(4), 603-604.
- Galil, B.S., 2000. A sea under siege alien species in the Mediterranean. Biological Invasions, 2, 177-186.
- Galil, B.S., 2008. Alien species in the Mediterranean Sea which, when, where, why? Hydrobiologia, 606, 105-116.
- Gallardo, T., Bárbara, I., Afonso-Carrillo, J., Bermejo, R., Altamirano, M. et al., 2016. Nueva lista crítica de las algas bentónicas marinas de España. A new checklist of benthic marine algae of Spain. Algas. Boletín Informativo de la Sociedad Española de Ficología, 51, 7-52.
- Gatti, G., Bianchi, C.N., Montefalcone, M., Venturini, S., Diviacco, G. et al., 2017. Observational information on a temperate reef community helps understanding the marine climate and ecosystem shift on the 1980-90s. Marine Pollution Bulletin, 114, 528-538.
- Gerbal, M., 1986. Sargassum muticum (Phaeophyceae, Fucales) dans l'étang de Thau (Méditerranée, France): présence de thalles cespiteux. Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration de la Mer Méditerranée, 30 (2), 5.
- Giaccone, G., 1969. Raccolte di fitobenthos sulla banchina continentale italiana. Giornale Botanico Italiano, 103, 485-514.
- Giaccone, G., Colonna, P., Graziano, C., Mannino, M., Tornatore, E., Cormaci, M. et. al., 1985. Revisione della flora marina di Sicilia e isole minori. Bollettino dell'Accademia Gioenia di Scienze Naturale di Catania, 18, 537-582.
- Gómez Garreta, A., Barceló Martí, M.C., Pérez-Ruzafa, I.M., Ribera Siguan, M.A., Rull LLuch, J., 2001. Flora phycologica iberica. Vol. 1 Fucales. Universidad de Murcia, Murcia, 192 pp.
- González García, J.A., Conde, F., 1992. Sargassum desfontainesii (Turner) C. Agardh (Fucales, Fucophyceae), Primera cita para el Mediterráneo. Acta Botanica Malacitana. 17, 250-251.
- Gorostiaga, J.M., Santolaria, A., Secilla, A., Casares, C., Díez, I., 2004. Check-list of the Basque coast benthic algae (North of Spain). Anales del Jardín Botánico de Madrid, 61, 155-180.
- Gruet, Y., 1983. L'algue brune d'origine japonaise Sargassum muticum (Yendo) Fensholt envahit la côte française de l'océan Atlantique après avoir colonisé celle de la Manche. Bulletin de la Société des Sciences Naturelles de l'Ouest de la France, nouvelle série, 6 (1), 1-8.
- Guiry, M.D., Guiry, G.M., 2017. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. http://www.algaebase.org; searched on 05 May 2017.
- Hamel, G., 1931-1939. Phéophycées de France. Imprimerie Wolf, Rouen, xlvi + 432 pp + 10 plates.
- John, D.M., Prud'homme van Reine, W.F., Lawson, G.W., Kostermans, T.B., Price, J.H., 2004. A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands. Nova Hedwigia, 127, 1-139.

- Knoepffler-Peguy, M., Belsher, T., Boudouresque, C.F., Lauret, M., 1985. Sargassum muticum be-gins to invade the Mediterranean. Aquatic Botany, 23, 291-295.
- Komatsu, T., Murakami, S.I., 1994. Influence of a Sargassum forest on the spatial distribution of water flow. Fisheries Oceanography, 3 (4), 256-266.
- Komatsu, T., Fukuda, M., Mikami, A., Mizuno, S., Kantachumpoo, A. et al., 2014. Possible change in distribution of seaweed, Sargassum horneri, in northeast Asia under A2 scenario of global warming and consequent effect on some fish. Marine Pollution Bulletin, 85 (2), 317-324.
- Kützing, F.T., 1843. Phycologia generalis oder Anatomie, Physiologie und Systemkunde der Tange. Mit 80 farbig gedruckten Tafeln, gezeichnet und gravirt vom Verfasser. F.A. Brockhaus, Leipzig, xxxii + 458 pp + 80 plates.
- Kützing, F.T., 1849. Species algarum. F.A. Brockhaus, Lipsiae, 922 pp.
- Kützing, F.T., 1861. Tabulae phycologicae oder Abbildungen der Tange. XI Band. F. Förstemann, Nordhausen, 32 pp + 100 plates.
- Littler, D.S., Littler, M.M., 2000. Caribbean reef plants. An identification guide to the reef plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico. Offshore Graphics publ., Washington, 542 pp.
- Mattio, L., Payri, C.E., Stiger-Pouvreau, V., 2008. Taxonomic revision of Sargassum (Fucales, Phaeophyceae) from French Polynesia based on morphological and molecular analyses. Journal of Phycology, 44 (6), 1541-1555.
- Mattio, L., Payri, C.E., Verlaque, M., 2009. Taxonomic revision and geographic distribution of the subgenus Sargassum (Fucales, Phaeophyceae) in the western and central Pacific islands based on morphological and molecular analyses. Journal of Phycology, 45, 1213-1227.
- Mattio, L., Payri, C.E., Verlaque, M., De Reviers, B., 2010. Taxonomic revision of Sargassum sect. Acanthocarpicae (Fucales, Phaeophyceae). Taxon, 59, 896-904.
- Mattio, L., Payri, C.E., 2011. 190 years of Sargassum taxonomy, facing the advent of DNA phylogenies. The Botanical Review, 77, 31-70.
- Mattio, L., Anderson, R.J., Bolton, J.J., 2015. A revision of the genus Sargassum (Fucales, Phaeophyceae) in South Africa. South African Journal of Botany, 98, 95-107.
- Noormohammadi, Z., Baraki, S.G., Sheidai, M., 2011. Preliminarily report on molecular diversity of Sargassum species in Oman Sea by using ISSR and RAPD markers. Acta Biologica Szegediensis, 55 (1), 19-26.
- Ould-Ahmed, N., Gómez Garreta, A., Ribera Siguan, M.A., Bouguedoura, N., 2013. Checklist of the marine macroalgae from Algeria. I. Phaeophyceae. Anales del Jardín Botánico de Madrid, 70 (2), 136-143.
- Parriaud, H., 1959. Sur la présence de Sargassum flavifolium Kütz. dans le Bassin d'Arcachon. Procès-Verbaux de la Société Linnéenne de Bordeaux, 98, 1-3.
- Pérès, J.M., Picard J., 1964. Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. Recueil des Travaux de la Station Marine d'Endoume, 31 (47), 3-137.
- Perret-Boudouresque, M., Seridi, H., 1989. Inventaire des algues marines benthiques d'Algérie. GIS Posidonie publ., Marseille, 116 pp.
- Phang, S.M., Yeong, H.Y., Ganzon-Fortes, E.T., Lewmanomont, K., Prathep, A. et al., 2016. Marine algae of the South China Sea bordered by Indonesia, Malaysia, Philippines, Singapore, Thailand and Vietnam. Raffles Bulletin of Zoology, Supplement 40, 13-59.
- Price, J.H., John, D.M., Lawson, G.W., 1978. Seaweeds of the

- western coast of tropical Africa and adjacent islands: a critical assessment. II. Phaeophyta. Bulletin of the British Museum (Natural History). Botany Series, 6 (2), 87-182.
- Ribera, M.A., Gómez-Garreta, A., Gallardo, T., Cormaci, M., Furnari, G. et al., 1992. Check-list of Mediterranean seaweeds. I. Fucophyceae (Warming 1884). Botanica Marina, 35, 109-130.
- Ribera, M.A., Boudouresque C.F., 1995. Introduced marine plants, with special reference to macroalgae: mechanisms and impact. p. 187-268. In: Progress in Phycological Research, Round, F.E., Chapman, D.J. (Eds), Biopress Ltd publ., Bristol.
- Ribera, M.A., Gómez Garreta, A., Barceló, M.A., Rull LLuch, J., 1996. Mapas de distribución de algas marinas de la Península Ibérica e Islas Baleares. VIII. Cystoseira C. Agardh y Sargassum C. Agardh. Botanica Complutensis, 20, 89-103.
- Sangil, C., Sanson, M., Afonso-Carrillo, J., 2015. Spatio-temporal variations and recruitment of Sargassum flavifolium Kützing in sublittoral cobble bottoms: relationships with environmental variables. Journal of Applied Phycology, 27, 455-467.
- Sauvageau, C., 1897. Notes préliminaires sur les algues marines du Golfe de Gascogne. Journal de Botanique, 11, 1-64.
- Sauvageau, C., 1912. A propos des Cystoseira de Banyuls et de Guéthary. Bulletin de la Station Biologique d'Arcachon, 14, 133-556.
- Silva, P.C., Basson, P.W., Moe, R.L., 1996. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. University of California Press, Berkeley, xiv + 1259 pp.
- Špan, A., 2005. The genus Sargassum in the Adriatic Sea: morphology, systematics and ecology. Acta Adriatica, 46 (suppl. 1), 9-80.
- Taşkın, E., Öztürk, M., 2013. Türkiye deniz algleri. I. Phaeophyceae. CBÜ Matbaası, Manisa, Turkey, ii + 229 p.
- Taylor, W.R., 1960. Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. The University of Michigan Press, Ann Arbor, 870 pp.
- Taylor, W.R., 1976. A check-list of Venezuelan marine algae. Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, 22 (132-133), 71-101.
- Thélin, I., Mossé, R.A., Boudouresque, C.F., Lion, R., 1985. Le benthos littoral d'El Dabaa (Méditerranée, Egypte). II. L'herbier à Posidonia oceanica. Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration de la Méditerrannée, 29 (5), 247-248.
- Thibaut, T., Pinedo, S., Torras, X., Ballesteros, E., 2005. Long-term decline of the populations of Fucales (Cystoseira spp. and Sargassum spp.) in the Albères coast (France, North-western Mediterranean). Marine Pollution Bulletin, 50, 1472-1489.
- Thibaut, T., Blanfuné, A., Boudouresque, C.F., Verlaque, M., 2015. Decline and local extinction of Fucales in the French Riviera: the harbinger of future extinctions? Mediterranean Marine Science, 16 (1), 206-224.
- Thibaut, T., Blanfuné, A., Verlaque, M., Boudouresque, C.F., Ruitton, S., 2016. The Sargassum conundrum: highly rare, threatened or locally extinct in the NW Mediterranean and still lacking protection. Hydrobiologia, 781, 25-42.
- Thiers, B., 2016. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. http://sweetgum.nybg.org/ih; searched on 10 October 2016.
- Tsekos, J., Haritonidis, S., Margaris, N.S., Tzabelas, K., 1982. Contribution to the study of populations of benthic macroal-gae (Chlorophyceae, Phaeophyceae and Rhodophyceae) of the Greek seas [in Greek]. Thalassographica, 5(1), 61-153.

- Tseng, C.K., Baoren, L., 1988. Studies on Chinese species of Zygocarpic Sargassum. p. 23-54. In: Taxonomy of economic seaweeds: with reference to some Pacific and Caribbean species, II. California Sea Grant College publ., La Jolla.
- Tsiamis, K., Panayotidis, P., Salomidi, M., Pavlidou, A., Kleinteich, J. et al., 2013a. Macroalgal community response to re-oligotrophication in Saronikos Gulf. Marine Ecology Progress Series, 472, 73-85.
- Tsiamis, K., Panayotidis, P., Economou-Amilli, A., Katsaros, C., 2013b. Seaweeds of the Greek coasts. I. Phaeophyceae. Mediterranean Marine Science, 14 (1), 141-157.
- Tsiamis, K., Taşkın, E., Orfanidis, S., Stravrou, P., Argyrou, M. *et al.*, 2014. Checklist of seaweeds of Cyprus (Mediterranean Sea). Botanica Marina, 57 (3), 153-166.
- Tsuda, R.T., Walsh, S.K., 2013. Bibliographic checklist of the marine benthic algae of Central Polynesia in the Pacific Ocean (excluding Hawai'i and French Polynesia). Micronesica, 2013 (2), 1-91.
- Vergés, A., Tomas, F., Cebrian, E., Ballesteros, E., Kizilkaya, Z. et al., 2014. Tropical rabbitfish and the deforestation of a warming temperate sea. Journal of Ecology, 102, 1518-1527.
- Verlaque, M., 1977. Etude du peuplement phytobenthique au voisinage de la centrale thermique de Martigues-Ponteau (golfe de Fos, France). Doctoral thesis, Université d'Aix-Marseille II, France, 172 pp.
- Verlaque, M., Boudouresque, C.F., 1981. Végétation marine de la Corse. V. Documents pour la flore des algues. Biologie Écologie Méditerranéenne, 8 (3-4), 139-156.
- Verlaque, M., Boudouresque, C.F., Mineur, F., 2007. Oyster transfers as a vector for marine species introductions: a realistic approach based on the macrophytes. p. 39-47. In: Impact of mariculture on coastal ecosystems, CIESM Workshop Monographs 32. Briand, F. (Ed), CIESM publ., Monaco.
- Verlaque, M., Ruitton, S., Mineur, F., Boudouresque, C.F., 2015. CIESM Atlas of exotic species. 4. Macrophytes. CIE-SM Publisher, Monaco, 362 pp.
- Wynne, M.J., 2011. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: third revision. Nova Hedwigia, 140, 7-166.
- Yatsuya, K., Nishigaki, T., Douke, A., Wada, Y., 2007. Seasonal changes in biomass of macrophytes stranded on Yoro Beach along a sargassacean forest in Wakasa Bay, Sea of Japan. Fisheries Science, 73, 609-614.
- Zanolla, M., Carmona, R., De la Rosa, J., Salvador, N., Sherwood, A.R., Andreakis, N., Altamirano, M., 2014. Morphological differentiation of cryptic lineages within the invasive genus Asparagopsis (Bonnemaisoniales, Rhodophyta). Phycologia, 53 (3), 233-242.
- Zarmouh, M.M., Nizamuddin, M., 1991. Sargassum ramentaceum (Phaeophyta, Fucales), a new species from the eastern coast of Libya. Willdenowia, 21, 269-273.
- Zenetos, A., Gofas, S., Morri, C., Rosso, A., Violanti, D. et al., 2012. Alien species in the Mediterranean Sea by 2012. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part 2. Introduction trends and pathways. Mediterranean Marine Science, 13 (2), 328-352.
- Zenetos, A., Çinar, M.E., Crocetta, F., Golani, D., Rosso, A. *et al.*, 2017. Uncertainties and validation of alien species catalogues: the Mediterranean as an example. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 191, 171-187.
- Zhao, F., Wang, X., Liu, J., Duan, D., 2007. Population genetic structure of Sargassum thunbergii (Fucales, Phaeophyta) detected by RAPD and ISSR markers. Journal of Applied Phycology, 19 (5), 409-416.

Medit. Mar. Sci., 19/1, 2018, 48-57