

Screening de l'activité anti-microfouling d'algues vertes récoltées sur la côte nord tunisienne

Wafa Chérif^{1,2}, M. El Bour¹, O. Dali Yahia-Kefi², L. Ktari^{1*}

1. INSTM: 28, Rue 2 mars 1934 Salammbô 2025 Tunisie.

2. INAT: 43, Avenue Charles Nicolle 1082 Tunis Mahrajène Tunisie.

* Email : leila.ktari@instm.rmr.tn

الخصائص البيولوجية مكافحة اللواصق البحرية الطحالب الخضراء المجنية على ساحل شمال تونس : تتصل اللواصق البحرية أو (Biofouling) بالهياكل المغمورة في البحر، مما ينجر عنها أضرار إقتصادية عديدة ومتنوعة و للوقاية منه يتم إستعمال طلاء يحتوي على مادة كبريت النحاس مما يتسبب في تسميم البيئة البحرية. يندرج هذا العمل في إطار تقييم الطحالب في السواحل التونسية و البحث عن مستخلصاتها الطبيعية و تأثيرها على اللواصق . في هذا الإطار، قمنا بدراسة الخصائص البيولوجية لمستخلصات عشرة أنواع من الطحالب الخضراء التي تم جنيها على الساحل الشمالي التونسي وهي: *Enteromorpha linza*, *Ulva rigida*, *Chaetomorpha linum*, *Halimeda tuna*, *racemosa* *Cladophora laetivirens*, *Codium bursa*, *Codium fragile*, *Caulerpa prolifera*, *Caulerpa var. cylindracea* . وقد تمت دراسة تأثير مستخلصات الطحالب على اثنا عشر نوع من البكتيريا المتلفة و اللاصقة و على ثلاث أنواع الطحالب المجهرية : *Bryopsis muscosa* فاعلية كبيرة ضد أنواع البكتيريا *Codium fragile* كما أظهر مستخلص فاعلية أكبر ضد نمو الطحالب المجهرية .
كلمات مفاتيح: طحالب خضراء, مضاد للأوساخ المترسبة, ديكلوروميثان, طحالب مجهرية, بكتيريا بحرية

RESUME

Les bio-salissures marines intéressent toute structure immergée en mer. Les dommages engendrés par ce phénomène sont économiquement importants. Les peintures utilisées pour prévenir du biofouling, utilisent des biocides organostaniques qui se sont avérés très toxiques et posent un problème environnemental important. Le présent travail s'intègre dans le cadre de la valorisation des macroalgues des côtes tunisiennes par la recherche de molécules naturelles antifouling pouvant se substituer aux substances déjà utilisées. Dans cette étude, nous avons analysé le potentiel anti-microfouling d'extraits organiques de 10 espèces d'algues vertes: *Ulva linza*, *Ulva rigida*, *Chaetomorpha linum*, *Cladophora laetivirens*, *Codium bursa*, *Codium fragile*, *Caulerpa prolifera*, *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*, *Halimeda tuna* et *Bryopsis muscosa*. L'activité antibactérienne des extraits bruts a été testée vis-à-vis de 12 espèces de bactéries de référence Gram (-) et Gram (+) (majoritairement isolées du milieu marin) et de 8 bactéries foulantes. *Bryopsis muscosa* est l'espèce qui a montré l'activité antibactérienne la plus importante sur différentes souches bactériennes et notamment celles foulantes. L'activité algicide des extraits a été testée sur la croissance de 3 microalgues : une diatomée, une haptophyceae et une chlorophyceae. L'inhibition de la croissance, par les extraits de macroalgues, a été plus importante sur la diatomée *Chaetoceros calcitrans*. L'extrait de *Codium fragile* est l'espèce qui a montré l'activité algicide la plus importante.

Mots clés : algues vertes, dichlorométhane, microalgues, bactéries marines, antifouling.

ABSTRACT

Anti-microfouling activity of green seaweeds collected on the Tunisian northern coast : Marine biofouling interests any immersed structure leading to economically important damages. Paints used to warn biofouling, use organostanic biocides which turned out to be very toxic and raise important environmental problems. The present work aimed to assess Tunisian seaweeds use for natural products extraction as substitute to toxic antifouling substances. Thus, anti-microfouling potential of organic extracts of 10 species of green seaweeds: *Enteromorpha linza*, *Ulva rigida*, *Chaetomorpha linum*, *Cladophora laetivirens*, *Codium bursa*, *fragile Codium*, *Caulerpa prolifera*, *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* , *Halimeda tuna* and *Bryopsis muscosa* , were analysed. Antibacterial activity was tested towards 12 bacteria strains: Gram (-) and Gram (+) (mainly marine species) and 8 fouling bacteria. The seaweed *Bryopsis muscosa* showed a large spectrum of antibacterial activity and particularly on fouling bacteria. In second step, algicidal activity of crude extracts was tested against 3 microalgae species: a Diatom, an Haptophyceae and a Chlorophyceae. Results revealed seaweeds extracts inhibition mainly against the diatom *Chaetoceros calcitrans*. *Codium fragile* extract showed the highest algicidal activity.

Key words: green algae, dichloromethane, microalgae, marine bacteria, antifouling.

INTRODUCTION

La colonisation des surfaces artificielles immergées est une réaction immédiate qui se traduit, dès les premières heures d'immersion, par la formation d'un biofilm primaire, composé de macromolécules organiques (protéines, polysaccharides, glycoprotéines...), puis de micro-organismes, enfin de macro-organismes. Cette colonisation indésirable est considérée comme des salissures biologiques ou "biofouling". Ce processus évolutif peut aboutir à la constitution d'un agrégat complexe et quantitativement important entraînant de nombreux problèmes à incidences économiques : corrosion des surfaces métalliques, colmatage des systèmes de filtration, opacité des verres optiques, une surcharge des navires entraînant une augmentation de la consommation en carburant (Relini, 2004).

Pour combattre le fouling, l'industrie chimique, depuis les années 60, a largement commercialisé des peintures contenant des composés métalliques comme le tributyl étain (TBT) ou l'oxyde de cuivre, ce qui n'a pas été sans incidences néfastes. En effet, le TBT s'est révélé hautement toxique du fait de son potentiel de bioaccumulation dans les tissus animaux et de l'incapacité de la plupart des organismes de le métaboliser (Alzieu *et al.*, 1986; Kannan & Falandysz, 1997). Actuellement, l'utilisation des substances à base d'Étain est complètement prohibée pour tous types de navires, depuis 2008 (directive 99/51/CEE ratifiée à ce jour par 34 pays).

Il apparaît donc essentiel, en réponse à ces réglementations sévères et pour la protection de l'environnement, de développer une approche alternative aux traitements chimiques contre les salissures marines qui soit efficace et non nocive pour le milieu marin.

Certains organismes aquatiques ne présentent pas de salissures à leurs surfaces. Cela indique la présence de mécanismes les protégeant, en particulier, la flore marine qui est dépourvue de moyen de défense physique et peut sembler vulnérable. Pourtant, l'absence de prédation vis-à-vis de certaines espèces montre bien, au contraire, leur capacité à développer des stratégies de défense chimique. De nombreuses études ont mis en évidence l'activité antifouling de diverses substances extraites de macroalgues marines. Citons à titre d'exemples ; (i) flexiline de l'algue verte *Caulerpa flexilis* (Paul *et al.*, 1987), (ii) caulerpénine de l'algue verte *Caulerpa* sp. (Dobretsov, 2006 ; Paul *et al.*, 1986) et (iii) les phénols bromés de l'algue rouge *Rhodomela larix* (Hellio *et al.*, 2001).

En Tunisie, l'étude d'activités biologiques de macroalgues et l'extraction de composés actifs sont une nouvelle voie de recherche à l'INSTM. Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'un screening des propriétés antifouling d'algues collectées sur la

côte nord tunisienne (Ben Redjem *et al.*, 2009, Ktari *et al.*, 2010). Il concerne l'étude des activités antimicrofouling (bactéries et microalgues) de macroalgues appartenant à la classe des Chlorophyceae.

MATERIEL ET METHODES

1-Matériel biologique

Les algues ont été collectées en zone côtière pour la plupart de Cap Zebib (37°15'49.66''N et 10°04'02.85''E) ou dans la baie de Carthage (36°50'47.66''N et 10°19'41.62''E) et *Chaetomorpha linum* collectée de la lagune de Bizerte (37°8'37.14''N et 9°48'9.56''E) (Fig.1). Les 10 espèces collectées et identifiées sont présentées dans le Tableau I.

Une fois au laboratoire, le matériel algal est nettoyé pour retirer les espèces épiphytes. Les algues sont séchées pendant quelques jours, à température ambiante, à l'abri de la lumière dans un endroit sec. L'extrait brut est obtenu par macérations successives dans un solvant organique : le dichlorométhane, puis évaporation du solvant au rotaévaporateur, selon la méthode décrite par Ktari (2000). Le dichlorométhane permet l'extraction de substances apolaires tels que les pigments, les lipides et les composés terpéniques.

2-Test antibactérien

L'activité antibactérienne a été évaluée à deux niveaux : d'une part sur des bactéries pathogènes de références et d'autre part sur des bactéries foulantes isolées du milieu naturel. Ainsi 12 espèces de bactéries pathogènes de référence (B1- B12) de provenance cliniques et d'aquacultures ont été utilisées ainsi que 8 bactéries foulantes (BF1- BF8) isolées à partir d'un dispositif expérimental immergé dans la baie de Carthage (Chérif *et al.*, 2010).

Les tests antibactériens ont été évalués selon la méthode des disques (Casida, 1986). Chaque pastille est imbibée de 10µl de solvant contenant 1mg d'extrait brut d'algue. L'excès de solvant est évaporé à l'air libre de la pastille. Les pastilles ainsi préparés sont déposées à la surface de boîtes de pétries gélosées ensemencées de suspension bactérienne. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm. Un témoin négatif contenant le solvant uniquement est testé.

3-Test d'inhibition des microalgues

L'activité algicide a été évaluée sur 3 espèces de microalgues: une diatomée (*Chaetoceros calcitrans*), une haptophyte (*Isochrysis tahiti*) et une Chlorophycée (*Tetraselmis suecica*). Les tests ont été réalisés selon la méthode décrite par Hellio *et al.*, (2002) avec quelques modifications. Des tubes stériles contenant 5ml d'eau de mer stérile à une salinité de 30 psu et enrichie par le milieu de Conway (Conway, 1971) sont ensemencés par un inoculum

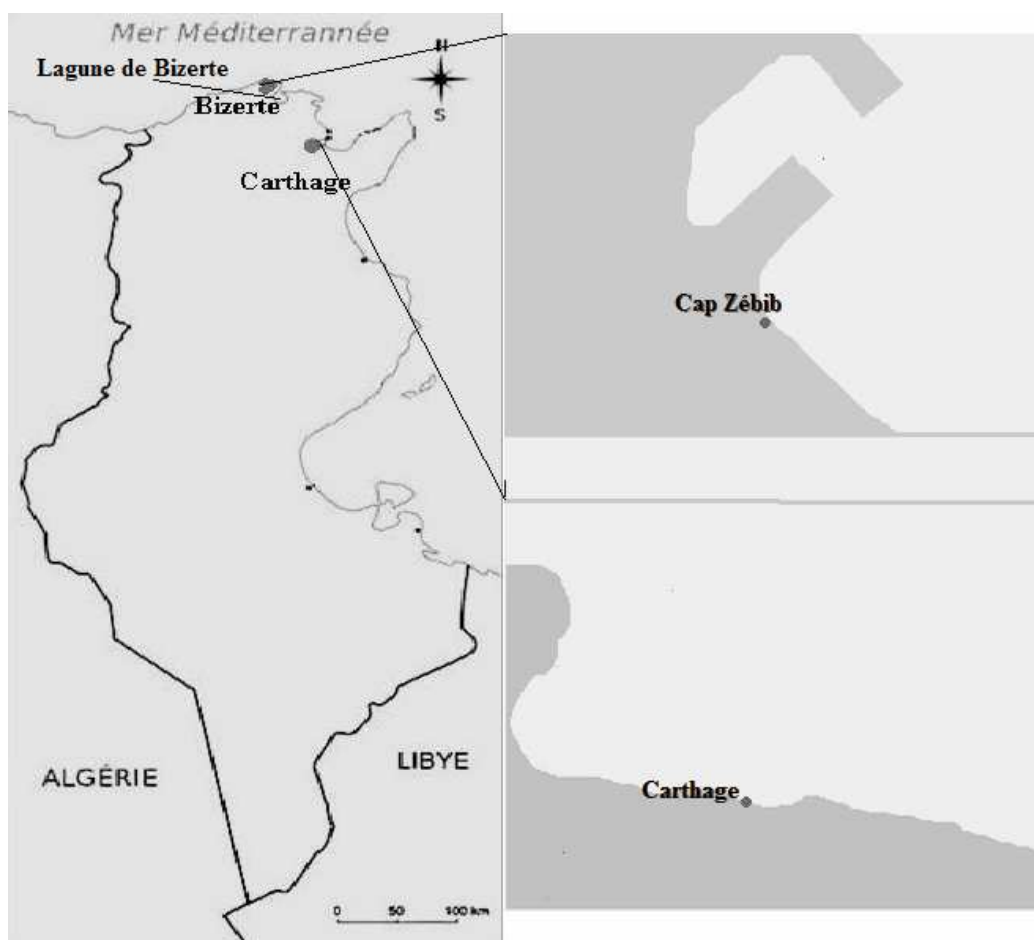


Figure 1: Position géographique des sites de récolte Cap Zébib, la lagune de Bizerte et la baie de Carthage

Tableau I : Liste des espèces algales étudiées et de leur lieu de collecte

Famille	Genre et espèce	Lieu de collecte
Bryopsidaceae	<i>Bryopsis muscosa</i>	Baie de Carthage
Caulerpaceae	<i>Caulerpa prolifera</i>	Baie de Carthage
	<i>C. racemosa</i> var. <i>cylindracea</i>	Cap Zébib
Cladophoraceae	<i>Chaetomorpha linum</i>	Lagune de Bizerte
	<i>Cladophora laetivirens</i>	Cap Zébib
Codiaceae	<i>Codium bursa</i>	Baie de Carthage
	<i>Codium fragile</i>	Baie de Carthage
Halimedaceae	<i>Halimeda tuna</i>	Cap Zébib
Ulvaceae	<i>Ulva linza</i> (syn. <i>Enteromorpha linza</i>)	Cap Zébib
	<i>Ulva rigida</i>	Cap Zébib

d'une culture mère de microalgue en phase exponentielle pour une concentration finale de 5.10^5 cellules/ml. Les extraits bruts à tester sont rajoutés à une concentration de $100\mu\text{g/ml}$ dissous dans $20\ \mu\text{l}$ de diméthylsulfoxyde (DMSO). Les tubes sont incubés à 20°C , une intensité lumineuse de 3000 Lux et avec une photopériode de (12/12). Deux témoins positifs ont été réalisés avec le Tributylétain (TBT) (1 ppm) et le sulfate de cuivre (CuSO_4) (5 ppm) ainsi que deux témoins négatifs, l'un ne contenant ni extrait ni

biocide et l'autre contenant $20\mu\text{l}$ de DMSO. Tous les tests ont été effectués en duplicata. Un comptage des cellules algales est fait chaque jour à l'aide d'une cellule de Malassez pour le suivi de l'évolution des cultures. L'estimation de l'activité inhibitrice est calculée au 5^{ème} jour par rapport à l'inhibition due au DMSO.

$$\% \text{ Inhibition}_{\text{extrait}} = (N_{\text{DMSO}} - N_{\text{extrait}} / N) * 100$$

Où :

N : Nombre de microalgues sans biocide ni extrait.

N_{DMSO}: Nombre de microalgues dans le DMSO.

N_{extrait}: Nombre de microalgues avec extrait dissous dans le DMSO

4-Analyse statistiques

Les données sont rapportées sous forme de moyennes et sont analysées par la méthode d'analyse de variance à une variable (ONE WAY ANOVA). Les résultats sont considérés significatifs pour p<0.05. (p< 0.05 ; p<0.01).

RESULTATS

1-Test antibactérien

Les résultats des tests antibactériens des extraits au dichlorométhane des macroalgues sont donnés dans les tableaux II et III. Le tableau II présente les diamètres d'inhibition obtenus sur les bactéries pathogènes de références. L'algue dont l'extrait a montré les inhibitions les plus importantes ainsi qu'un large spectre d'activité est *Bryopsis muscosa*.

Tableau II : Activité antibactérienne des extraits algaux sur les bactéries pathogènes

Espèces d'algues	B1♦	B2♦	B3♦	B4♦	B5♦	B6♦	B7♦	B8♦	B9♦	B10♦	B11♦	B12♦
<i>B. muscosa</i>	15	10	12	10	12	10	7	0	10	12	12	0
<i>C. prolifera</i>	10	12	0	0	7	0	0	0	7	0	7	0
<i>C. racemosa</i> var. <i>cylindracea</i>	nt	0	nt	nt	nt	0	nt	nt	0	nt	nt	nt
<i>Ch. Linum</i>	nt	0	nt	nt	nt	0	nt	nt	0	nt	nt	nt
<i>C. laetivirens</i>	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. bursa</i>	10	10	7	0	10	0	0	0	0	7	0	0
<i>C. fragile</i>	12	7	10	12	8	0	0	0	0	7	0	0
<i>H. tuna</i>	nt	0	nt	nt	nt	0	nt	nt	0	nt	nt	nt
<i>E. linza</i>	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0
<i>U. rigida</i>	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

♦ Significativité : la différence entre les tests est significative pour les différents algues testées (p<0.01)

B1 : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), B2 : *Pseudomonas cepacia*, B3 : *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212),

B4 : *Pseudomonas fluorescens*, B5 : *Aeromonas salmonicida*, B6 : *Aeromonas hydrophila*, B6 : *Staphylococcus aureus*, B7 : *Escherichia Coli* (ATCC 25922), B9 : *Escherichia Coli* (O126B16), B10 : *Vibrio alginolyticus*, B11 : *Salmonella typhimurium*, B12 : *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

Tableau III : Activité antibactérienne des extraits algaux sur les bactéries foulantes

Espèces d'algues	BF1●	BF2●	BF3●	BF4●	BF5●	BF6●	BF7●	BF8●
<i>B. muscosa</i>	0	0	0	0	15	0	10	12
<i>C. prolifera</i>	0	0	7	0	0	0	0	8
<i>C. racemosa</i> var. <i>cylindracea</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ch. linum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. laetivirens</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. bursa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>C. fragile</i>	0	0	8	7	7	0	0	8
<i>H. tuna</i>	0	0	0	0	7	0	0	0
<i>E. linza</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>U. rigida</i>	0	0	0	0	0	0	0	0

● Significativité : la différence entre les tests est non significative pour les différents algues testées (p>0.01)

BF1 : *Shezanella putrefaciens*, BF2 : *Chryseobacterium maningosepticum*, BF3 : *Staphylococcus Epidermidis*, BF4 : *Aeromonas hydrophyla*, BF5 : *Brevundimonas vesicularis*, BF6 : *Staphylococcus xylosus*, BF7 : *Pseudomonas putida*, BF8 : *Chryseobacterium indologenes*

En effet l'extrait au dichlorométhane de cette espèce a inhibé le développement de 10 souches parmi 12 avec des diamètres d'inhibition pour la pulpart supérieurs à 10 mm. Pour les deux espèces représentatives de la famille des Codiaceae (*C. fragile*

et *C. bursa*), 5 souches sur les 12 utilisées ont été inhibées. Les activités des extraits de ces deux espèces sont relativement semblables, puisque ces derniers ont inhibé les mêmes espèces bactériennes suivantes : *S. aureus*, *P. fluorescens*, *P. cepacia*, *A.*

salmonicida et *E. faecalis*. Cependant, l'extrait de *C. fragile* a donné des diamètres d'inhibition plus importants.

Les extraits des espèces suivantes : *Enteromorpha linza*, *Ulva rigida*, *Cladophora laetivirens* et *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* se sont révélés les moins actifs. Aucune inhibition remarquable n'a été observée.

Il est à noter que, l'espèce bactérienne la plus sensible est *S. aureus* qui a été inhibée par le plus grand nombre d'extraits. En revanche, *E. coli* et *P. aeruginosa* se sont révélées les plus résistantes.

Les résultats de l'activité antibactérienne d'extraits algaux vis-à-vis de bactéries foulantes. Ainsi, sur les 10 espèces d'algues étudiées, 3 ont montré une inhibition *B. muscosa*, *C. prolifera* et *C. fragile*. L'extrait de la macroalgue *B. muscosa* a montré l'activité la plus importante avec une forte inhibition observée vis-à-vis de la bactérie foulante *B. vesicularis* et une inhibition significative vis-à-vis des deux bactéries *P. putida* et *C. indologenes*. L'extrait de *Codium fragile* montre une inhibition vis-à-vis de 4 bactéries foulantes : *B. vesicularis*, *C. indologenes*, *A. hydrophyla* et *S. epidermidis*. Aucune activité n'a été observée pour l'extrait de *Codium bursa*.

Une différence de résultats a été également obtenue pour les deux espèces de Caulerpaceae puisqu'une inhibition a été enregistrée pour l'extrait de *C. prolifera* sur : *S. Epidermidis* et *C. indologenes* tandis qu'aucune inhibition n'est observée pour *C. racemosa* var. *cylindracea*.

L'algue *Halimeda tuna* n'a montré aucune activité vis-à-vis des différentes souches foulantes excepté *B. vesicularis* vis-à-vis de laquelle une faible inhibition a été observée.

Enfin, *Cladophora laetivirens*, *Chaetomorpha linum*, *Enteromorpha linza* et *Ulva rigida* n'ont montré aucune activité vis-à-vis de la totalité des bactéries foulantes testées.

2- Test d'inhibition des microalgues

Après une incubation de 5 jours, l'effet des extraits de macroalgues sur *C. calcitrans*, *I. tahiti* et *T. suecica* a été évalué par dénombrement des cellules algales ayant survécu à la fin de la culture. Il est à noter que l'espèce *Cladophora laetivirens* n'a pas pu faire l'objet des tests d'inhibition des microalgues par manque d'extrait. Les pourcentages d'inhibition sont enregistrés dans les figures 1, 2 et 3.

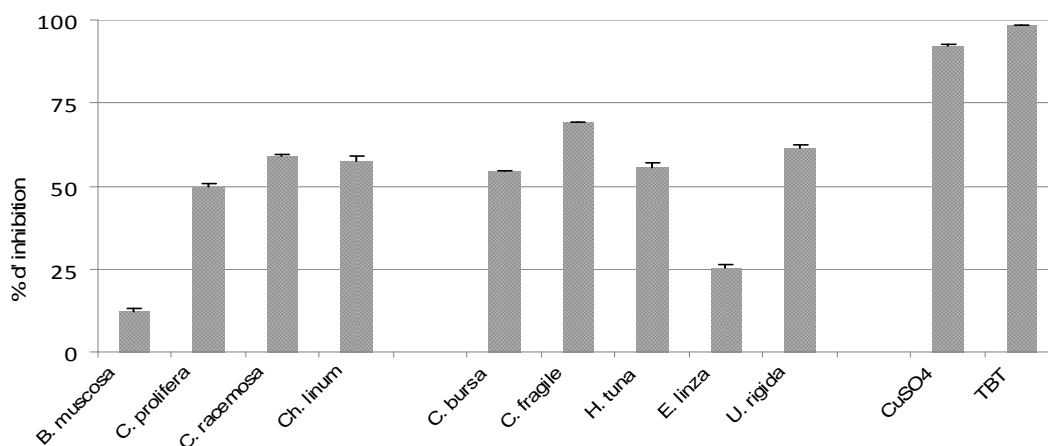


Figure 2 : Pourcentage d'inhibition de la microalgue *Chaetoceros calcitrans* par les extraits d'algues

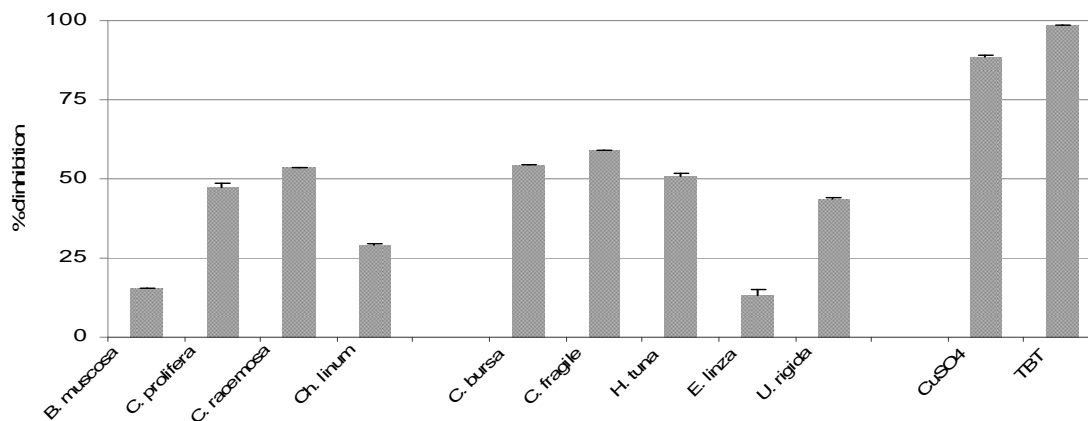


Figure 3 : Pourcentage d'inhibition de la microalgue *Isochrysis tahiti* par les extraits d'algues

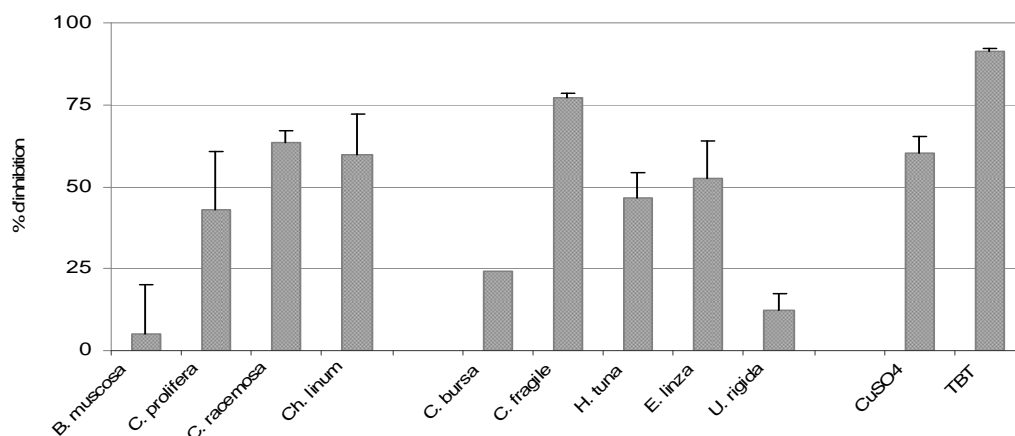


Figure 4 : Pourcentage d'inhibition de la microalgue *Tetraselmis suecica* par les extraits d'algues

Les résultats obtenus montrent une inhibition significative (> 50%) de la majorité des extraits algaux vis-à-vis de la diatomée *C. calcitrans* à l'exception de ceux provenant des deux espèces *B. muscosa* et *E. linza* qui ont une très faible inhibition (< 25%) (Fig. 1).

Concernant la microalgue *I. tahiti* (Fig. 2), les extraits testés donnent des inhibitions similaires à celles observées vis-à-vis de *C. calcitrans* mais légèrement plus faibles, puisque seules *C. racemosa* var. *cylindracea*, *C. bursa* et *C. fragile* et *H. tuna* donnent des inhibitions supérieures à 50%. Les extraits des autres espèces : *C. prolifera*, *C. linum* et *U. rigida* ne montrent que des inhibitions faibles (< 50%). Ceux provenant de *B. muscosa* et *E. linza* présentent des taux d'inhibition très faibles (< 25%).

Le profil d'inhibition de *T. suecica* est légèrement différent des deux autres microalgues (Fig. 3). En effet, on observe une forte inhibition (> 75%) pour l'extrait de *C. fragile*. Ceci confirme la présence de substances actives pour cette algue puisque les trois microalgues testées ont été inhibées de manière significative à forte (>50%). En revanche, l'extrait de *C. bursa* présente une très faible inhibition de *T. suecica*. Les extraits de *C. racemosa* var. *cylindracea*, *C. linum* et *E. linza* montrent une inhibition significative (52%). Il est à noter que les extraits d'*E. linza* ont donné de très faibles inhibitions (<25%) de *C. calcitrans* et *I. tahiti* (Fig. 1 et 2).

Les extraits de *C. prolifera* et *H. tuna* inhibent faiblement (< 50%) la microalgue *T. suecica*, tandis que celui de *B. muscosa* et *U. rigida* présentent de très faibles inhibitions (< 25%). Il est à remarquer que l'extrait organique de *B. muscosa* n'a donné aucune inhibition significative des trois microalgues tests (Fig. 1, 2 et 3).

Les deux biocides TBT et CuSO₄ ont inhibé fortement les 3 microalgues.

DISCUSSION

Parmi les 10 espèces testées, une seule a permis d'obtenir un extrait qui a montré des activités significatives aux tests biologiques réalisés. Il s'agit de l'algue *Codium fragile*. Ces résultats concordent avec ceux de Chiheb *et al.* (2009) qui ont obtenu, pour cette espèce collectée sur la côte méditerranéenne marocaine, une forte inhibition bactérienne vis-à-vis de *S. aureus*. Concernant l'activité algicide, un résultat différent du notre est signalé pour l'espèce *C. fragile* collectée sur les côtes japonaises avec une faible activité (Alamsjah *et al.*, 2005), ce qui suggère une variabilité liée à la situation géographique. En revanche, l'extrait de *C. bursa* a montré peu ou pas d'activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries testées. Ce résultat concorde avec ceux de Ballesteros *et al.*, (1992) qui n'ont pas observé d'activité antibactérienne chez *C. bursa* récolté sur les côtes méditerranéennes. D'autres espèces du genre *Codium* ont fait l'objet d'études quant à leur potentiel antibactérien. Certaines n'ont pas montré d'activité intéressante, c'est le cas de *C. adhaerens* et *C. tomentosum* collectés sur les côtes atlantiques marocaines (El Kouri *et al.*, 2004). Par contre, un glycoside stéroïdien antibactérien a été isolé par Ali *et al.* (2002) à partir de *C. iyengarrii* collecté en Océan Indien.

Dans la présente étude, les extraits de *Bryopsis muscosa* ont montré l'activité antibactérienne la plus importante avec un large spectre d'action sur différentes souches, aussi bien pathogènes que foulantes. Ce résultat concorde avec ceux observés par Salvador *et al.*, (2007) qui, sur 18 espèces de Chlorophyceae testées pour leurs activités antibactériennes, ont constaté que les extraits des espèces du genre *Bryopsis* étaient les plus actifs. Les extraits de cette espèce n'ont en revanche présenté aucune activité algicide dans le présent travail.

Pour l'espèce *Halimeda tuna* Ballesteros *et al.*, (1992) n'ont observé aucune activité. Cette absence d'activité a été également observée par Bhosale *et al.*, (2002) pour *Halimeda sp.* des côtes indiennes. Ce qui est en accord avec nos résultats.

Concernant l'activité observée pour les deux espèces du genre *Caulerpa*, il est à noter que plusieurs études ont montré, chez les Caulerpaceae, la présence de composés terpéniques tels que la caulerpine, la caulerpicine, la caulerpényne..., dotés de plusieurs types d'activités biologiques : algicide, cytotoxique, répulsif, etc. (Vidal *et al.*, 1984; Fischel *et al.*, 1995). Parmi ces composés, la caulerpényne a été décrite comme le métabolite secondaire majeur du genre *Caulerpa* et peut atteindre des concentrations de 1.3% du poids frais de l'algue (Amade et Lemee, 1998). Une activité algicide a été rapportée pour cette molécule, testée sur une culture de diatomée : *Nitzshia closterium*, avec une CI_{50} (concentration inhibitrice de 50%) à 7 μ g/ml (Suissa, 1994). Ces résultats sont en accord avec les nôtres obtenus pour les échantillons de *Caulerpa prolifera* et *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea*.

Les extraits des espèces de la famille des Ulvaceae (*U. linza* et *U. rigida*) ont montré de faibles activités particulièrement pour les tests antibactériens, mise à part une inhibition significative de *S. aureus* par *U. rigida*. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par De Val *et al.* (2001) qui ont observé une forte inhibition de cette même souche bactérienne (de l'ordre de 15mm), pour les extraits d'*U. rigida* collecté sur la côte espagnole. Taskin *et al.* (2007), en revanche, ont obtenu pour l'extrait méthanolique de cette algue une activité positive vis-à-vis de *E. faecalis*, *E. Coli* et *P. aeruginosa* et aucune activité vis-à-vis de *S. aureus*.

Il est à noter que peu d'études ont concerné l'activité algicide d'extraits organiques de macroalgues. Hellio *et al.* (2002) ont étudié l'activité inhibitrice de 30 macroalgues, dont 3 Chlorophyceae, sur 11 microalgues, dont 3 de la classe des Diatomophyceae. Ils ont obtenus des résultats qui concordent avec ceux de la présente étude pour les activités obtenues sur les diatomées, avec des inhibitions moyennes (25 à 50%) pour les espèces des genres *Ulva* et *Enteromorpha*. De même, ces auteurs n'ont pas obtenu d'inhibition de l'extrait au dichlorométhane d'*Ulva lactuca* sur *Tetraselmis sp.* (Prasinophyceae), comme pour *U. rigida* de Cap zébib. En revanche, selon ces mêmes auteurs, les extraits d'*Enteromorpha intestinalis* collectée sur la côte atlantique française sont inactifs vis-à-vis de *Tetraselmis sp.*, à la différence de nos résultats obtenus pour l'espèce *Ulva linza*.

CONCLUSION

Les extraits de macroalgues, ont montré des activités inhibitrices variables selon l'espèce de bactérie ou de

microalgue testée. Les algues vertes étudiées n'ont pas toutes montré la présence d'activités inhibitrices significatives pour les tests biologiques réalisés *in vitro*. Les espèces des genres *Bryopsis*, *Codium* et *Caulerpa* ont donné les inhibitions les plus significatives. Les extraits de l'algue *Bryopsis muscosa* ont montré l'activité antibactérienne la plus importante sur différentes souches bactériennes et notamment celles foulantes. Concernant l'étude de l'activité algicide, les extraits de la macroalgue *Codium fragile* ont montré une activité inhibitrice significative. Les extraits de cette espèce ont également montré une activité antibactérienne non négligeable et de ce fait elle pourrait être considérée comme intéressante pour une étude plus approfondie pour l'extraction de principes actifs potentiellement antifouling.

Remerciements :

Les auteurs souhaitent remercier vivement, Dr. Amel Medhioub, Maître de Recherche à l'INSTM Monastir, pour la mise à notre disponibilité des monocultures de microalgues et sa précieuse aide pour le maintien des souches.

BIBLIOGRAPHIE

- ALAMSJAH M.A., HIRAO S., ISHIBASHI F., FUJITA Y. 2005 - Isolation and structure determination of algicidal compounds from *Ulva fasciata*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 69: 2186-92.
- ALI M.S., SALEEM M., YAMDAGNI R., ALI M.A. 2002- Steroid and antibacterial steroidal glycosides from marine green alga *Codium iyengarii* Borgesen. *Nat. Prod. Lett.* 16 : 407-413.
- ALZIEU C., SANJUAN J., DELTREIL J.P., BOREL B. 1986 - Tin contamination in Arcachon Bay: effects on oyster shell anomalies. *Marine Pollution Bulletin*, 17 : 494-498.
- AMADE P., LEMEE R. 1998 - Chemical defence of the Mediterranean alga *Caulerpa taxifolia*: variations in CYN production. *Aquat. Toxicol.*, 43:287-300
- BALLESTEROS E., MARTIN D., URIZ M.J. 1992 - Biological Activity of Extracts from Some Mediterranean Macrophytes. *Botanica Marina*, 35: 481 -485.
- BEN REDJEM Y., EL BOUR M., LANGAR H., ROMDHANE M.S., KTARI L. 2009 - Etude de l'activité antifouling de quelques algues brunes récoltées sur la côte nord tunisienne. *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer*, Numéro Spécial (13): 10-14.
- BHOSALE S.H., NAGLE V.L., JAGTAP T.G. 2002 - Antifouling Potential of Some Marine Organisms from India against Species of

- Bacillus and Pseudomonas. *Mar. Biotechnol.* 4:111–118.
- CHERIF W., KTARI L., KÉFI-DALY YAHIA O., EL BOUR M. 2010 - Microfouling community in bay of Carthage (northern Tunisia) : preliminary identification and bioactive properties. *Rapp. Comm. int. Mer Médit.*, 39: 345.
- CHIHAB I., RIADI H., MARTINEZ-LOPEZ J., DOMINGUEZ SEGLAR J.F., GOMEZ VIDAL J.A., BOUZIANE H., KADIRI M. 2009 - Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 8:1258-1262
- CONWAY J.H. 1971- Three lectures on exceptional groups, Finite Simple Groups (M. B. Powell and G. Higman, eds.), Academic Press: 215-247.
- DE VAL A.G., PLATAS G., BASILIO A., CABELLO A., GORROCHATEGUI 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). *Int. Microbiol.* 4:35-40.
- DOBRETSOV, S.D., H.-U.; HARDER, T.; QIAN, P.-Y., 2006 - Allelochemical defense against epibiosis in the macroalga *Caulerpa racemosa* var. *turbinata*. *Marine Ecology - Progress Series*, 318: 165-175.
- EL KOURI A., BULTEP-PONCE V., ASSOBBEP O., ETHAHIRI S. 2004 - Etude de la variation saisonnière de l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire chez quelques espèces d'algues marines de la côte Atlantique marocaine. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 3: 29-36.
- FISCHEL J.L., LEMEE R., FORMENTO P., CALDANI C., MOLL J.L., PESANDO D., MEINESZ A., GRELLIER P., PIETRA F., GUERRIERO A., MILANO G. 1995 - Cell growth inhibitory effects of caulerpenyne, a sesquiterpenoid from the marine alga *Caulerpa taxifolia*. *Anticancer Res.*, 15: 2155–2160.
- HELLIO C., THOMAS-GUYON H., CULIOLI G., PIOVETTI L., BOURGOUGNON N., LE GAL Y. 2001- Marine antifoulants from *Bifurcaria bifurcata* (Phaeophyceae, Cystoseiraceae) and other brown macroalgae. *Biofouling*, 17(3):189–201.
- HELLIO C., BERGE J.P., BEAUPOIL C., LE GAL Y. BOURGOUGNON N. 2002 - Screening of marine algal extracts for anti-settlement activities against microalgae and macroalgae. *Biofouling*, 18(3): 205-215.
- KANNAN K., FALANDYSZ J. 1997- Butyltin residues in sediment, fish, fish-eating birds, harbour porpoise, and human tissues from the Polish coast of the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 34: 203–207.
- KTARI L. 2000 - Recherche de composés actifs dans les algues marines : propriétés pharmacologiques et simulation du cycle biologique de l'algue et de la biosynthèse d'un métabolite. Thèse de Doctorat Université Paris VI, 148p.
- KTARI L., ISMAIL-BEN ALI A., BEN REDJEM Y., LANGAR H., EL BOUR M. 2010 - Antifouling activity and chemical investigation of the brown alga *Dictyota fasciola* (Dictyotales) from Tunisian coast. *Cahiers de Biologie Marine*, 51: 109-115.
- RELINI G. 2004 - Biofouling. *Biol. Mar. Medit.*, Suppl.1: 267-307.
- SALVADOR N., GARRETA A.G., LAVELLI L., RIBERA M.A. 2007- Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina* 71: 1.
- SUISSA A. 1994 - Activité biologique de la Caulerpenyne et des Terpènes voisins. Thèse de la faculté de Pharmacie de Marseille. 75p.
- TASKIN E., OZTURK M., TASKIN E., KURT O. 2007 - Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology*, 24: 2746-2751.
- VIDAL J.P., LAURENT D., KABORE S.A., RECHENCQ E., BOUCARD M., GIRARD J.P., ESCALE R., ROSSI J.C. 1984 - Caulerpin, Caulerpicin, *Caulerpa scalpelliformis*: Comparative Acute Toxicity Study. *Botanica Marina*, 27: 533-537.
- PAUL V.J., FENECAL W. 1986- Chemical defense in tropical green algae, order Caulerpales. *Marine Ecology Progress Series*, 34: 157-169.
- PAUL V.J., FENICAL W. 1987- Natural products chemistry and chemical defense in tropical marine algae of the phylum Chlorophyta. *Bioorganic Marine Chemistry*, 1: 1-29.