

COMPOSANTE 2C - Projet 2C3

Substances Actives Marines

Juin 2006

CRISP



Coral Reef InitiativeS for the Pacific
Initiatives Corail pour le Pacifique

MEMOIRE DE MASTER

Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et

Études des composés de défense de différentes espèces de Sargassacées des Îles Salomon



Auteur : Klervi Le Lann

CRISP



Le CRISP est un programme mis en œuvre dans le cadre de la politique développée par le Programme Régional Océanien de l'Environnement afin de contribuer à la protection et la gestion durable des récifs coralliens des pays du Pacifique.

Cellule de Coordination CRISP
Chef de programme : **Eric CLUA**
CPS - BP D5
98848 Nouméa Cedex
Nouvelle-Calédonie
Tél./Fax : (687) 26 54 71
E-mail : ericc@spc.int
www.crisponline.net

L'initiative pour la protection et la gestion des récifs coralliens dans le Pacifique (CRISP), portée par la France et préparée par l'AFD dans un cadre interministériel depuis 2002, a pour but de développer une vision pour l'avenir de ces milieux uniques et des peuples qui en dépendent, et de mettre en place des stratégies et des projets visant à préserver leur biodiversité et à développer dans le futur les services économiques et environnementaux qu'ils apportent tant au niveau local que global. Elle est conçue en outre comme un vecteur d'intégration entre états développés (Australie, Nouvelle-Zélande, Japon et USA), Collectivités françaises de l'Outre-Mer et pays en voie de développement du Pacifique.

Le CRISP est structuré en trois composantes comprenant respectivement divers projets :

Composante 1 : Aires marines protégées et gestion côtière intégrée

- Projet 1A1 : Analyse éco-régionale
- Projet 1A2 : Aires Marines Protégées (AMP)
- Projet 1A3 : Renforcement institutionnel
- Projet 1A4 : Gestion intégrée des zones lagunaires et des bassins versants

Composante 2 : Connaissance, gestion, restauration et valorisation des écosystèmes coralliens

- 2A : Connaissance, valorisation et gestion des écosystèmes coralliens
- 2B : Restauration récifale
- 2C : Valorisation des Substances Actives Marines
- 2D : Mise en place d'une base de données régionale (Reefbase Pacifique)

Composante 3 : Appui institutionnel et technique

- 3A : Capitalisation, valorisation et vulgarisation des acquis du programme CRISP
- 3B : Coordination, promotion et développement du programme CRISP

COMPOSANTE 2C

Substances Actives Marines (SAM)

Responsable de composante :
Cécile DEBITUS
IRD - UMR 152
Université Paul Sabatier
Toulouse II
Faculté des Sciences
31062 Toulouse cedex 9
France
Tél. : (33) 5 62 25 98 11
Fax : (33) 5 62 25 98 02
E-mail : cecile.debitus@ird.fr

■ PROJET 2C-1 :

Volet juridique - Proposition d'amélioration des législations des pays insulaires pour le partage des bénéfices issus de la valorisation des SAM

■ PROJET 2C-2 :

Volet taxonomique - Amélioration de la connaissance des invertébrés benthiques récifaux

■ PROJET 2C-3 :

Volet technologique - Isolement et identification de SAM

■ PROJET 2C-4 :

Volet de renforcement institutionnel - Formation de personnes ressources du Pacifique insulaire

LE PROGRAMME CRISP EST FINANÇÉ PAR LES ORGANISATIONS SUIVANTES :





Master SCIENCES de la MER et du LITTORAL,
mention Sciences Biologiques Marines
Année universitaire : 2005-2006

Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria*
et
Etude des composés de défense de différentes espèces de
Sargassacées
des Iles Salomon (Pacifique Sud)



LE LANN Klervi

Maître de stage : STIGER-POUVREAU Valérie

Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues Marines
(LEBHAM)



REMERCIEMENT

Je tiens tout d'abord à remercier le Pr. Eric DESLANDES, Directeur du LEBHAM, de m'avoir accueillie, une seconde fois, au sein de son laboratoire pour ce stage de 5 mois. Merci de m'avoir offert la possibilité de travailler dans un domaine qui me passionne.

Un très grand merci au Dr. Valérie STIGER-POUVREAU pour m'avoir offert la possibilité d'effectuer ce stage plus qu'intéressant et stimulant de Master 2. Merci pour votre confiance, votre implication, vos conseils et votre disponibilité. Et j'espère que je serai là en septembre! Je ferai tout pour en tout cas!!!

Je remercie particulièrement Mme Nelly KERVAREC du service RMN-RPE de l'UBO, sans qui une bonne partie de ce travail n'aurait pas été possible. Merci pour sa patience, et ses explications sur la RMN...et les pauses café!!!

Merci à M. Roger PICHON de nous avoir ouvert le service commun RMN-RPE.

Je tiens à remercier vivement tous les membres de l'équipe du LEBHAM pour leur aide, leurs conseils ainsi que leurs explications.

Merci à Mme Isabelle BIHANNIC du département de biologie de l'UBO, qui a préparé les souches bactériennes terrestres.

Je remercie aussi le Dr Claire HELLIO de l'université de Portsmouth, ainsi que toute son équipe, qui a réalisé les screening antimicrobiens sur les souches marines. Merci de m'avoir transmis, par l'intermédiaire de Valérie, vos publications.

Merci au Dr Cécile DEBICUS et à son équipe (IRD Université Paul Sabatier, Toulouse III) d'avoir réalisé les autres tests d'activités.

Merci au Dr Claude PAYRI pour le conditionnement des algues et pour l'envoi de cette magnifique photo qui illustre la page de présentation de mon rapport. Merci au photographe!

Merci Marie-Do pour les pauses déjeuners-bavardage, ça fait du bien!!! Courage pour la suite! J'espère que tu trouveras une thèse avec un sujet passionnant (enfin, de ton point de vue!). Tu le mérites!

Merci à Fab, de me supporter malgré ma mauvaise fois et très souvent ma mauvaise humeur (sisi c'est vrai!!!). J'attends maintenant ton futur long-métrage (tu m'en a promis l'exclusivité!). A quand le festival de Cannes?

Merci à Marie, pour m'avoir secondé au cours des mois de Janvier-Février.

Merci à Lydiane Mattio, qui lors de son passage au LEBHAM, a identifié les espèces de *Sargassum*

Merci à ma famille et à mes amis de me soutenir dans mes études! (que je n'espère pas finies!!!)

Merci à tous ceux que je n'ai pas cités ici mais à qui je pense comme même!

Table des Figures

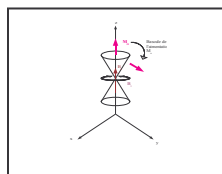


Figure 1 : schéma des champs magnétiques appliqués sur les noyaux lors d'une séance de RMN, et leur répartition en cône autour du champ magnétique statique B_0 4

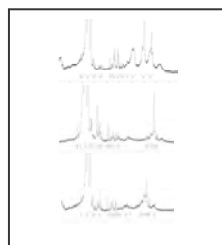


Figure 2 : Spectres HRMAS de *Turbinaria conoides* (A), *T. ornata*(B) et *T. decurrens* (C).9

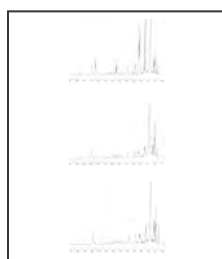


Figure 3 : Spectres RMN de *Turbinaria conoides* (A), *T. ornata* (B) et *T. decurrens* (C).10

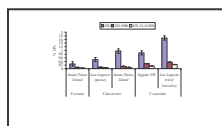


Figure 4 : variations interspécifiques et spatiales des teneurs moyennes en composés phénoliques au sein du genre *Turbinaria*.11

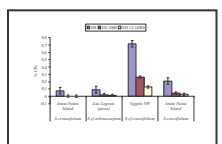


Figure 5 : variations interspécifiques et spatiales des teneurs moyennes en composés phénoliques au sein du genre *Sargassum*.11

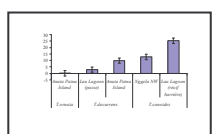


Figure 6 : Variations interspécifiques et spatiales des activités antioxydantes des extraits polaires de différentes espèces de *Turbinaria*.12

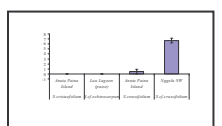


Figure 7 : Variations interspécifiques et spatiales des activités antioxydantes des extraits polaires de différentes espèces de *Sargassum*.12

Table des Tableaux

<u>Tableau 1</u> : critères discriminants retenus pour la distinction des espèces de <i>Tubinaria</i> par HRMAS.....	9
<u>Tableau 2</u> : critères discriminants retenus pour la distinction des espèces de <i>Tubinaria</i> par RMN haute résolution.....	10
<u>Tableau 3</u> : Equations illustrant les relations entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante pour les genres <i>Turbinaria</i> et <i>Sargassum</i>	12
<u>Tableau 4</u> : résultats du test contre le cancer du larynx (ou carcinome) pour les extraits polaires (composés phénoliques) des Sargassaceae des Iles Salomon.....	13

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	2
I. MATERIEL BIOLOGIQUE	2
II. SITES D'ÉCHANTILLONNAGE	2
III. DETERMINATION CHIMIOTAXONOMIQUE DE QUELQUES ESPECES DU GENRE <i>TURBINARIA</i>	3
1. Principe de la méthode mise en place	3
2. Techniques de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).....	3
IV. EXTRACTION DES COMPOSES POLAIRES ET DES COMPOSES APOLAIRES ..	5
1. Extraction, dosage et purification des composés polaires : les composés phénoliques	5
2. Extraction des composés apolaires	6
V. TESTS D'ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS	6
1. Activité antioxydante	6
2. Tests antibactériens	7
VI. ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES	8
RESULTATS	9
I. ANALYSE CHIMIOTAXONOMIQUE DES ESPECES DE <i>TURBINARIA</i>	9
II. TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES DES SARGASSACEAE DES ILES SALOMON	10
1. Teneurs en composés phénoliques	10
2. Relation entre la teneur en composés phénoliques et l'épiphytisme et/ou le broutage.....	11
III. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS POLAIRES ET APOLAIRES	11
1. Activité antioxydante :	11
2. Tests d'activités antibactériens en milieu terrestre	12
3. Tests d'activités antibactériens en milieu marin	12
4. Autres tests d'activités biologiques.....	13
DISCUSSION	13
I. DETERMINATION CHIMIOTAXONOMIQUE DE QUELQUES ESPECES DU GENRE <i>TURBINARIA</i>	13
II. TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES DES <i>SARGASSACEAE</i> DES ILES SALOMON	14
III. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES SARGASSACEAE DES ILES SALOMON	17
1. Activité antioxydante	17
2. Activité antibactérienne	20
3. Autres activités biologiques intéressantes.....	23
CONCLUSION	24
BIBLIOGRAPHIE	25
FIGURES	31

INTRODUCTION

Le Pacifique Sud, et entre autre les Iles Salomon, offre un potentiel en substances chimiques non négligeable, en raison de la forte biodiversité marine existante. **Les Sargassaceae** présentant une très **forte biomasse** dans les milieux récifaux (Stiger, 1997), il est devenu intéressant de pouvoir **valoriser** industriellement cette importante biomasse. Actuellement, la filière macroalgue est surtout tournée vers l'exploitation industrielle des phycolloïdes (polysaccharides de paroi : agars, carraghénanes, alginates) aux propriétés gélifiantes et stabilisantes. Cependant, les **composés algaux** sont aussi de plus en plus utilisés en pharmacie, parapharmacie, cosmétique, aquaculture, lutte anti-fouling. Parmi ces composés, les **composés phénoliques** retiennent l'attention de part **leurs fonctions antioxydantes** et photoprotectrice (Lim *et al.*, 2002 ; Pavia et Brock, 2000), anti-fouling, **antimicrobiennes** (Wispongpan et Kuniyoshi, 2003), de défense contre le broutage (Pavia *et al.*, 1997) et contre l'épiphytisme (ces deux derniers rôles étant les plus discutables) (Ragan et Glombitza, 1986). Ces métabolites secondaires, non essentiels à l'organisme, sont présents en quantités variables chez les végétaux vasculaires (on parle de tannins) et chez les algues brunes (on parle de **phlorotannins**). Parmi les Phaeophyceae, les **Sargassaceae** (Fucales) sont relativement pauvres en phlorotannins, avec une moyenne de 1,59 % par g de MS pour les espèces tropicales (Zubia, 2003), comparées aux Fucales et aux Dictyotales tempérées avec respectivement jusqu'à 20 et 30% MS (Connan, 2004). Cependant, le rôle exact de ces composés au sein des organismes est encore mal connu, et semble varier en fonction de l'espèce et du milieu (Ragan et Glombitza, 1986). Néanmoins, ces phlorotannins ne sont pas les seuls composés algaux présentant des caractéristiques pouvant être exploitées : par exemple, les pigments apolaires ont des **activités antioxydantes** (Le Tutour *et al.*, 1998) et certains **composés lipidiques** ont une activité antimicrobienne (Hellio *et al.*, 2000). En outre, ces composés algaux, en plus de leurs propriétés intéressantes, peuvent permettre de déterminer chimiquement les espèces au sein d'un genre. En effet depuis ces dernières années, le développement de méthodes analytiques, moléculaires et biochimiques permet de classer les organismes en fonction de leurs caractéristiques biochimiques. Cette classification **chimiotaxonomique** fournit ainsi des données complémentaires aux méthodes classiques (morphologiques et phylogénétiques). S'effectuant dans le cadre du programme « Biodiversité et substance marines actives » du volet « molécules actives » du Coral Reef Initiative in The South Pacific « **CRISP** » soutenu par l'Agence Française pour le Développement (convention IRD-AFD CZZ3012-02 U), ce travail intègre les deux domaines dans lesquels intervient le LEBHAM, à savoir **la taxonomie** et **la recherche de substances actives** chez les Sargassaceae, avec d'une part, la mise en place d'une méthode chimiotaxonomique, moins onéreuse et plus rapide que les méthodes classiques de biologie moléculaire (phylogénie), afin de

distinguer les espèces proche morphologiquement et génétiquement, et d'autre part la recherche d'extraits actifs polaires et apolaires, intéressant divers domaines tels que l'aquaculture, le biofouling et les secteurs paramédicaux et parapharmaceutiques au sein des pays partenaires.

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL BIOLOGIQUE

Une campagne de récolte a été menée en 2004 durant laquelle diverses espèces de Sargassaceae ont été collectées. Seules les espèces des deux genres *Sargassum* et *Turbinaria* ont été étudiées dans ce présent travail.

Les espèces du genre *Turbinaria* se caractérisent par un thalle rigide et dressé. L'axe principal porte des axes coniques à croissance limitée (les pleuridies) dont la forme varie avec l'espèce. La disposition des pleuridies forme un volume cylindrique autour de l'axe principal. Les espèces du genre *Sargassum* sont caractérisées par un thalle souple, constitué d'un axe principal pérennant, généralement court, et de ramifications latérales annuelles, souples et à croissance illimitée. A maturité, les espèces des deux genres portent les organes reproducteurs ou réceptacles. D'après une analyse morphologique des différents lots récoltés, les différentes espèces étudiées sont les suivantes : *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh, *Turbinaria decurrens* Bory de Saint-Vincent, *Turbinaria conoides* (J. Agardh) Kützing, *Sargassum crassifolium* J. Agardh, *Sargassum cristaefolium* C.A. Agardh, *Sargassum cf. echinocarpum* J. Agardh, *Sargassum cf. oligocystum* Montagne. Ces différentes espèces appartiennent à la division des *Ochrophyta*, à la classe des *Phaeophyceae*, à l'ordre des *Fucales* et à la famille des *Sargassaceae*. La taxonomie des ces deux genres est difficile. A l'heure actuelle, 500 espèces de *Sargassum* et 30 espèces de *Turbinaria* sont connues et la taxonomie se base sur des études morphologiques et moléculaires. Pour le genre *Turbinaria*, 54 variétés d'espèces ont été décrites dont 10 chez *T. ornata* et 5 chez *T. conoides*, témoignant des erreurs possible de classification au sein de ce genre.

II. SITES D'ECHANTILLONNAGE

Les Sargassaceae étudiées proviennent des Iles Salomon et plus particulièrement, de l'île de Malaita et de l'archipel de Nggela. Les Iles Salomon, situées dans le Pacifique Sud, au Nord-Est de l'Australie, présentent un climat tropical, avec une saison des pluies et des cyclones de novembre à mai et une saison sèche, d'avril à octobre, caractérisée par des vents de Sud-Est. Les températures moyennes de l'air sont généralement comprises entre 25 et 32°C ; celles de l'eau de mer varient

entre de 27 à 28°C, avec les températures les plus basses en juillet - août et les plus élevées en décembre – janvier. Les différents sites d'échantillonnage des espèces de Sargassaceae sont présentés en Annexe 1. Une estimation du taux d'épiphytisme et du broutage a été réalisée sur les lots d'algues lyophilisées.

III. DETERMINATION CHIMIOTAXONOMIQUE DE QUELQUES ESPECES DU GENRE *TURBINARIA*

1. Principe de la méthode mise en place

Dans le temps imparti, il était impossible de développer une étude phylogénétique sur les échantillons afin de s'assurer de leur appartenance spécifique. Nous avons donc tenté de mettre au point une technique rapide, peu onéreuse et efficace, basée sur les métabolites des algues. Les thalles de *Turbinaria* ont une consistance rigide ce qui permet d'obtenir une très bonne résolution en HRMAS (High Resolution Magic Angle Spinning) alors que les thalles des espèces du genre *Sargassum*, souples, ne le permettent pas. C'est pourquoi, seul le genre *Turbinaria* a été retenu dans un premier temps pour la mise en place de cette méthode. Trois espèces de *Turbinaria* semblent être présentes aux Iles Salomon : *T. decurrens*, *T. ornata* et *T. conoides*. Au niveau morphologique, la première espèce se distingue facilement des deux autres. De fréquentes erreurs de taxonomie surviennent dans la distinction des 2 espèces sœurs, *T. ornata* et de *T. conoides* (Rohfritsch *et al.*, sous presse). Nous avons donc mis au point une technique permettant de façon efficace de distinguer ces deux espèces. Cette méthode consiste, d'une part, à obtenir, via la technique de HRMAS, une « carte d'identité » de l'échantillon testé, et d'autre part, à confirmer l'identité de l'échantillon (c'est-à-dire l'espèce de *Turbinaria* à laquelle il appartient), via l'analyse en ¹H-RMN de ses composés apolaires (extraits au chloroforme). 10 pédoncules de pleuridie ont été prélevés par lot de *Turbinaria* et placés dans le rotor de la sonde HRMAS afin d'obtenir des spectres ¹H-RMN. L'espèce *T. decurrens* est utilisée comme référent, sa morphologie étant différente de celle des deux autres espèces, elle ne présente pas de difficulté pour une détermination classique (c'est-à-dire morphologique).

Les techniques de résonance magnétique utilisées sont décrites ci-après :

2. Techniques de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

(Service commun de RMN - RPE, UFR Sciences, UBO)

La RMN est une technique de spectroscopie de plus en plus utilisée en biologie et en médecine. Elle permet d'accéder qualitativement aux structures des molécules et à leur environnement physico-chimique sans dégrader l'échantillon étudié. Cette technique, non invasive, est basée sur la possibilité de faire résonner différents noyaux dans un champ magnétique, donc sur leurs propriétés magnétiques et cinétiques.

La RMN pulsée à transformée de Fourier utilise les propriétés des noyaux en physique quantique : pour chaque noyau est défini un « spin » qui correspond à un moment cinétique (noté I). Placé dans un champ magnétique statique d'intensité B_0 , les moments magnétiques des noyaux vont s'orienter soit dans la direction du champ B_0 soit dans le sens opposé en fonction de leur état d'énergie, c'est-à-dire de leur spin. Ils se répartissent alors à la surface de deux cônes autour et dans le champ. Un second champ magnétique alternatif B_1 , appliqué perpendiculairement à B_0 , tourne autour de B_0 à une certaine fréquence (fréquence de Larmor des noyaux excités), ce qui induit une bascule de l'aimantation résultante (M_0) du plan xoz dans le plan xoy (Figure 1). Dès l'arrêt du champ B_1 , l'aimantation M_0 va progressivement revenir à sa position initiale autour de l'axe z. La force électromotrice alternative, générée par les variations d'intensité enregistrées sur une bobine sur l'axe y, s'amortit exponentiellement. Les fréquences de résonance des noyaux sont alors extraites du signal obtenu (interférogramme) en réalisant « une transformée de Fourier », ce qui permet d'obtenir un spectre RMN. En effet, les divers protons d'une molécule absorbent l'énergie à des fréquences différentes en fonction de leur environnement physique et la restitue en fonction de leur environnement chimique. Ainsi l'interprétation de la position, de l'aspect et de l'intensité des signaux permet d'obtenir des informations sur les molécules contenues dans l'échantillon.

- *HRMAS ou RMN in vivo*

Cette technique empruntée à la ^1H -RMN des solutions est basée sur la rotation de l'échantillon suivant un axe orienté à l'angle magique ($54,7^\circ$) à une vitesse élevée (de l'ordre du kHz). La HRMAS permet d'obtenir des spectres d'échantillons hétérogènes, solides ou liquides mais généralement non transformés (échantillons de tissus vivants, lyophilisés, secs...) d'une résolution proche de celle rencontrée en RMN haute résolution des solutions. Les manipulations avec la sonde HRMAS sont faites sur le spectromètre BRUKER DRX Advance 500 (500 MHz).

- *^1H -RMN des solutions ou RMN du proton*

Le proton est un noyau de spin $\frac{1}{2}$ très abondant dans la nature. Il est très facilement détectable en RMN. Les fréquences de résonance des différents protons d'une molécule sont influencées par leur environnement au sein de la molécule ; en effet les noyaux sont aussi sous l'influence de champs magnétiques locaux formés par les spins des noyaux voisins. Les signaux de chacun des noyaux peut alors scinder en plusieurs raies, d'après la relation suivante : $2nI+1$ où n est le nombre de voisins du noyau considéré et I est le nombre de spin du noyau (ici $\frac{1}{2}$). La RMN du proton a été effectuée sur un spectromètre BRUKER DRX 400 (400 MHz).

IV. EXTRACTION DES COMPOSES POLAIRES ET DES COMPOSES APOLAIRES

1. Extraction, dosage et purification des composés polaires : les composés phénoliques

a) *Extraction hydrométhanoliques des composés phénoliques :*

Le protocole d'extraction des polyphénols est décrit en Annexe 2. Le solvant d'extraction utilisé est le méthanol-eau 50/50 (MeOH 50). Lors de l'extraction il est important que les algues ne soient pas exposées à la lumière directe, ni à des températures élevées car les polyphénols sont sensibles à la lumière ainsi qu'à des températures supérieures à 40°C. Après extraction, environ 140 mL de filtrat sont récupérés et passés à l'évaporateur rotatif (Rotavap) afin d'éliminer le méthanol et de concentrer l'extrait. Au final environ 20mL d'extrait brut sont obtenus : 1 à 2 mL sont conservés au réfrigérateur en vue du dosage ; le reste, congelé à -25°C, pourra être utilisé pour d'éventuelles études complémentaires.

b) *Dosage des polyphénols : méthode de Folin-Ciocalteu*

La méthode de dosage des composés phénoliques totaux utilisée est celle de Folin-Ciocalteu adaptée par Van Alstyne (1995) de la méthode de Folin-Denis adaptée par Harrison et Durance (1989). La méthode de Folin-Denis est basée sur l'oxydation des cycles phénoliques couplée à la réduction d'acide phosphomolybdique ; la méthode de Folin-Ciocalteu en diffère peu : au réactif de Folin-Denis est ajouté du lithium sulfate permettant de diminuer la formation de précipité facilitant la lecture de l'absorbance. De plus cette méthode ne nécessite pas de centrifugation et elle est plus rapide. Les protéines peuvent interférer dans le dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu car celle-ci est basée sur la présence de cycles aromatiques hydroxylés, caractéristique du phloroglucinol (les polyphénols algaux sont des polymères de phloroglucinol) mais aussi de certains acides aminés dits aromatiques : tyrosine, tryptophane, phénylalanine, pouvant être présents dans un certain nombre de protéines (Connan, 2004). Des tests ont montré que ces interférences peuvent être négligées car ces acides aminés aromatiques sont en proportion faible par rapport aux composés phénoliques non protéiques de *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt (Connan, 2004). Le réactif de Folin-Ciocalteu utilisé (préparé de façon commerciale par MERCK en Allemagne) donne en présence de composés phénoliques, après réaction, une coloration bleue. Le protocole du dosage par la méthode de Folin-Ciocalteu est décrit en Annexe 2. La gamme étalon est préparée à partir d'une solution mère de phloroglucinol à 100 mg.mL⁻¹, avec des concentrations allant de 0 à 20 µL.mL⁻¹. Les résultats sont ensuite rapportés à la masse sèche.

c) *Technique de purification des extraits polaires : la dialyse*

Le mannitol (182,2 Da), produit de la photosynthèse des algues brunes, représente de 1 à 34% de la matière sèche pour le genre *Sargassum* et de 1,4 à 8,7% de la matière sèche pour le genre *Turbinaria* (Zubia, 2003). Or ce composé de réserve peut masquer l'effet des composés phénoliques lors des tests biologiques (observations personnelles), ainsi, il a été envisagé d'éliminer

le mannitol par dialyse, système le plus simple, le plus rapide et le moins onéreux à notre disposition. Afin de purifier les extraits bruts polaires, deux dialyses en circuit ouvert (ou « Running Tape Water ») ont été effectuées d'une part avec des membranes de dialyse «Spectra/Por, *Spectrum Laboratories, Inc.*» dont les pores sont de 5000 Da et d'autre part avec des membranes de dialyse dont les pores sont < à 12-14 000 Da.

2. Extraction des composés apolaires

Le protocole d'extraction est décrit en Annexe 3.

Le solvant utilisé est le chloroforme (CHCl₃) pour les tests biologiques comme pour la chimiotaxonomie.

V. TESTS D'ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS

1. Activité antioxydante

La formation naturelle de radicaux libres, par voie biochimique ou/et photochimique, peut provoquer une oxydation de certaines biomolécules : peroxydation des lipides membranaires, dégradation de l'ADN... Les radicaux libres sont des molécules très instables car ils possèdent un électron non apparié, dit « électron célibataire ». Ils recherchent donc un état plus stable en « re-appariant » leurs électrons (nombre pair d'électrons) et ils ont tendance, pour cela, à prendre un électron à l'oxygène. Il se forme alors des radicaux oxygénés ou formes actives de l'oxygène (oxygène singulet, anion superoxyde, radical hydroxyle, radical peroxyde). Il existe des mécanismes de défenses cellulaires qui détruisent les radicaux oxygénés (peroxydases cellulaires : catalase, superoxyde dismutase...) ou qui piègent les radicaux libres (molécules antioxydantes : vitamine C, acides amides soufrés, acide urique...), mais ils ne suffisent pas lors d'une surproduction de ces radicaux libres résultant d'un stress, telle qu'une exposition prolongée aux radiations UV (notamment UV-B) par exemple, et les conséquences des dégâts infligés peuvent se révéler sous la forme de maladies telles que l'athérosclérose et les cancers. Les molécules antioxydantes, substances capables d'inhiber, ou au moins de retarder de façon significative, l'oxydation de biomolécules par les radicaux libres sont donc importantes dans la prévention et la lutte contre ces maladies.

a) *Méthode DPPH utilisée pour les composés phénoliques*

Les composés phénoliques semblent être de bons candidats pour leur activité antioxydante du fait de la présence de nombreux hydroxyles, pouvant réagir avec ces radicaux. La méthode choisie pour mesurer une activité antioxydante antiradicalaire chez les *Sargassaceae* des Iles Salomon est celle du DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) utilisée par Zubia (2003) et Connan (2004). C'est une méthode simple, rapide et facile à mettre en œuvre. Les composés antioxydants présents dans les extraits algaux (AH) pouvant donner un hydrogène (tels que les groupements hydroxyles des

composés phénoliques) réduiront le DPPH qui est un radical libre, stable, accepteur d'hydrogène. La réaction peut se résumer de la façon suivante :



La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la couleur violette à la couleur jaune de la solution, mesurable à 517 nm. Le protocole utilisé est détaillé en Annexe 4.

La solution de DPPH à $3,58.10^{-4}$ mol.L⁻¹ (14,1 mg dans 100 mL de méthanol 90%) est préparée à l'avance (au moins 3 ou 4 heures) car la solubilisation est difficile, et elle ne se conserve pas plus de 48h à l'obscurité. L'absorbance lue est ensuite transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin. La courbe traçant la relation entre le pourcentage d'inhibition et la teneur en composés phénoliques n'étant pas linéaire mais logarithmique (plateau atteint vers 80% d'inhibition), les extraits sont donc dilués ou concentrés pour obtenir un pourcentage d'inhibition aux alentours de 50% (Connan, 2004). Afin de comparer les extraits entre eux, deux indices sont calculés : Q50 (quantité (µg) de composés phénoliques nécessaire pour obtenir 50 % d'inhibition) et A (l'activité antioxydante ou pouvoir antioxydant des composés phénoliques présents dans les algues elles-mêmes) avec $A = 1/Q50 * T$, où T est la teneur en composés phénoliques en mg.g⁻¹ de MS. Ce test n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le DPPH en tant que radical libre et ainsi, d'apprécier indirectement les variations qualitatives des composés phénoliques.

b) Méthode DPPH utilisée pour les composés apolaires

Certaines substances lipidiques telles que les pigments apolaires sont citées comme antioxydants (Fujimoto et Kaneda, 1980 ; Le Tutour *et al.*, 1998 ; Yan *et al.*, 1998). La méthode choisie pour tester les activités antioxydantes des extraits apolaires est celle décrite par Yan *et al.* (1998). Cette méthode est basée sur le même principe que celle présentée ci-dessus, et elle utilise une solution de DPPH à 3.10^{-5} mol.L⁻¹, faite avec du DMSO. Le protocole est décrit en Annexe 4. Le calcul de l'activité antioxydante se fait comme suit : $[1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100$, avec A_i : l'absorbance de l'extrait mélangé avec 2mL de solution de DPPH, A_j : l'absorbance du même extrait mélangé avec 2mL de DMSO, A_c : l'absorbance du blanc (2mL de DPPH + 2mL de DMSO).

2. Tests antibactériens

Une première série de tests antibactériens a été effectuée au LEBHAM, par la méthode de diffusion utilisée de nombreuses fois dans la littérature pour tester le potentiel antibactérien de différentes algues (Screenivasa Rao *et al.*, 1986 ; Screenivasa Rao *et al.*, 1988 ; Sastry et Rao, 1994 ; Vlachos *et al.*, 1999 ; Arun Kumar et Rengasamy, 2000). 7 souches bactériennes ont été testées : 2 Gram-positive (*Streptococcus faecium* et *Staphylococcus aureus*) et 5 Gram-négative (*Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*). Ce sont des espèces testées classiquement lors de screening antibactérien. Elles sont responsables de

diverses infections chez l'Homme (dont des infections nosocomiales) et les animaux. Toutes ont été fournies par le département de Biologie de l'Université de Bretagne Occidentale (UFR Sciences, Brest). Les disques de papier Whatman n°1 de 0,6 mm de diamètre utilisés au cours de ces tests ont été préalablement stérilisés sous UV.

25µL de chaque extrait ont été déposés sur ces disques à l'aide d'une micropipette. Les disques ont ensuite été placés sur de la gélose solide où avait été préalablement inoculée la souche bactérienne. Les standards du mannitol, du phloroglucinol (pour les extraits polaires uniquement) et du solvant utilisé ont été testés en même temps afin d'écartier l'effet de ces molécules. Les concentrations testées sont 2mg.mL⁻¹ pour les extraits polaires et 0,1mg.mL⁻¹ pour les extraits apolaires. La lecture des boîtes de pétri a été effectuée après 24h et 48 h d'incubation à 37°C. Les diamètres d'inhibition ont été mesurés à la règle.

D'autres tests antibactériens ont été effectués par la méthode de dilution, à l'Université de Portsmouth (Grande Bretagne), sur 5 souches bactériennes marines : 4 Gram-négatives (*Cobetia marina*, *Vibrio aestuarianus*, *Polaribacter irgensii*, *Pseudoalteromonas elyakovii*) et une Gram-positive : *Shewanella putrefaciens*. Ces bactéries peuvent provoquer des altérations organoleptiques des produits de la mer (*S. putrefaciens*), infecter des organismes marins à intérêt économique et alimentaire (mollusques, crustacés, poissons, algues...) (*P. elyakovii*, *V. aestuarianus*), d'autres sont responsables d'infections chez l'Homme et les animaux (*C. marina*, *S. putrefaciens*).

3. Autres test d'activités biologiques

Dans le cadre du programme AFD, des extraits polaires bruts lyophilisés ont été envoyés à l'UMR 152 (Toulouse III) afin que soient testées des activités anticancéreuses (contre les cellules Kb du carcinome du larynx), neurotoxiques et cytotoxiques.

VI. ANALYSES STATISTIQUES DES DONNEES

Les données sont traitées de façon statistique par des analyses de variances (Anova à 1 facteur : les lots d'algues), à l'aide du logiciel « Statistica 6 ». La normalité de la distribution des données est testée avec le test Kolmogorov-Smirnov, puis les conditions d'application de l'Anova sont vérifiées en testant l'homogénéité des variances avec les tests de Cochran et Bartlett. Lorsque les conditions d'application des tests ne sont pas satisfaites malgré une transformation arcsin ($\sqrt{X+1}$), le test non paramétrique de Kruskal-Wallis (KW) est utilisé. Lorsque les différences sont significatives le test de Fisher (test LSD) est appliqué. Toutes les analyses sont réalisées au seuil de signification de 5%.

RESULTATS

I. ANALYSE CHIMIOTAXONOMIQUE DES ESPECES DE *TURBINARIA*

L'analyse des nombreux spectres HRMAS obtenus dans cette étude ont permis de dégager des signaux chimiques différents en fonction de l'espèce de *Turbinaria* considérée (Figure 2, Tableau 1). Les signaux intéressants sont ceux du citrate à 2,5 ppm, ceux visibles à moins de 2,5 ppm, à 2,89 et 2,96 ppm et enfin le suivi du rapport entre les deux doublets au pied du mannitol (à 3,6 ppm), et semblent des critères chimiques discriminant les espèces de *Turbinaria* (Figure 2, Tableau 1). Cependant, pour certains échantillons de *T.ornata* et *T.conoides*, un doute peut exister lorsque le rapport entre le citrate et le signal à 3,5 ppm est proche de 1. Dans ce cas précis, il s'est alors avéré nécessaire de vérifier les 3 autres points, à savoir le nombre de signaux larges, l'intensité des signaux à 2,89 et 2,96 ppm et l'écart des deux doublets au pied du mannitol.

Tableau 1 : critères discriminants retenus pour la distinction des espèces de *Tubinaria* par HRMAS. En gras sont signalées les deux espèces dont les erreurs de classement taxonomique sont courantes.

	<i>T. decurrens</i>	<i>T. conoides</i>	<i>T. ornata</i>
Signaux larges provenant des lipides ou des composés membranaires < à 2,5 ppm	2 signaux	3 signaux	2 signaux
Citrate (vers 2,5 ppm)	Petit signal	Signal toujours important, rapport citrate signal à 3,5ppm toujours largement > 1.	Signal toujours très petit
signaux à 2,89 et 2,96 ppm	Petits signaux	Petits signaux	Signaux très importants
Rapport entre les deux doublets au pied du mannitol (vers 3,6 ppm)		≈ 0,12 ppm	0,04 ppm

Si la distinction par HRMAS n'est pas concluante, le passage d'extraits chloroformiques par RMN haute résolution (400 MHz) ont permis d'éliminer tous les doutes restants (Figure 3, Tableau 2). Trois signaux sont alors à prendre en compte : le signal à 1,58 ppm, celui à 2,0 et celui à 5,2ppm. Si ces trois signaux sont faibles, il s'agit de *T. ornata*, si au contraire. Ils sont importants, il s'agit alors de *T. conoides* (Figure 3, Tableau 2).

Tableau 2 : critères discriminants retenus pour la distinction des espèces de *Tubinaria* par RMN haute résolution. En gras sont signalées les deux espèces dont les erreurs de classement taxonomiques sont courantes.

	<i>T. decurrens</i>	<i>T. conoides</i>	<i>T. ornata</i>
Signaux à 1,58 ppm	signal classique rapport de 2 700/3 000 (CH3)	Signal très important, rapport de 10 000/3 000	Signal faible, rapport de 2 400/3 000
Signaux à 2,0 ppm	signal classique rapport de 3 000/3 000 (CH3)	Signal très important, rapport de 11 000/3 000	Signal faible, rapport 2 500/3 000 (CH3)
Signaux à 5,2 ppm	Très petit, quasi inexistant	Présence quasi égale à celle des méthyles, rapport de 2 700/3 000	Très petit, quasi inexistant

II. TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES DES SARGASSACEAE DES ILES SALOMON

1. Teneurs en composés phénoliques

a) *Tubinaria sp.*

Des variations interspécifiques des teneurs en composés phénoliques sont notées au sein du genre *Tubinaria*. *T.ornata* présente la plus basse teneur avec $0,262 \pm 0,12$ % de composés phénoliques par gramme de matière sèche (CPs /g de MS) et *T.conoides* la plus forte teneur avec $1,272 \pm 0,11$ % de CPs/g de MS. Une teneur intermédiaire a été déterminée pour *T.decurrens* ($0,73 \pm 0,11$ % de CPs/g de MS). Chez *T. conoides*, il existe une différence significative dans la teneur en CPs en fonction du site d'échantillonnage (Figure 4). Après dialyse, quelque soit l'espèce et le site considéré il y a plus de 75% des CPs qui sont perdus avec l'utilisation de membranes de dialyse présentant des pores de 12-14000 Da, et plus de 60% avec les membranes de 5000 Da (Figure 4). *T. decurrens* présente les plus fortes pertes en composés phénoliques (85% de pertes avec la dialyse à 5000 Da et 90% avec celle à 12-14000 Da) et une variation spatiale des teneurs moyennes en CPs ($0,49 \pm 0,12$ pour *T.decurrens* de Lau Lagoon et $0,96 \pm 0,12$ pour *T.decurrens* de Anuta Paina Island). De plus, il existe des différences significatives entre les teneurs de extraits dialysés à 5000 et 12-14000 Da (KW, P= 0,002). Chez *T. conoides*, il y a un effet site et un effet « tailles des pores » significatifs. *T. ornata*, qui possède de faibles teneurs en CPs, présente proportionnellement de faibles pertes en phlorotannins lors des dialyses. Pour un même seuil de dialyse, il y a également des différences significatives entre les teneurs en composés phénoliques (Anova : $p < 0,001$).

b) *Sargassum sp.*

Seules les teneurs en composés phénoliques de *Sargassum cf. crassifolium* et de *S. crassifolium* sont significativement différentes de celles des 3 autres espèces (KW : $p=0,024$, test LSD), (Figure 5). Donc si *S. cf. crassifolium* est bien une « *crassifolium* », alors il existe un effet site sur la teneur en composés phénoliques chez cette espèce, avec un plus fort taux de composés phénoliques en zone de ressac (Nggela NW). Sur un même site : Anuta Paina Island, il existe des différences significatives entre les espèces (KW : $p=0,024$, test LSD) (Figure 5). Après dialyse et quelque soit l'espèce considérée, plus de 80% des composés phénoliques sont perdus avec l'utilisation des membranes de dialyse de 12-14 000 Da, et plus de 60% de pertes de composés phénoliques avec celles de 5000Da. On remarque qu'il n'y a un effet « taille des pores » que chez *S. cf. crassifolium*. Sur un même site, il n'y a pas de différence significative (test LSD) entre ED 5000 et ED 12-14000. Si *S. cf. crassifolium* est réellement une « *crassifolium* » alors il existe un effet site pour une même espèce entre Nggela NW et Anuta Paina Island (Figure 5). Contrairement aux espèces du genre *Turbinaria*, *S. cf. crassifolium* possède les plus fortes teneurs en composés phénoliques au niveau des extraits bruts et présente la plus faible perte en ces composés quelque soit la membrane de dialyse utilisée.

2. Relation entre la teneur en composés phénoliques et l'épiphytisme et/ou le broutage

Nos résultats montrent que plus l'algue est épiphytée (y), plus ses teneurs en composés phénoliques (x) sont faibles. En effet, une relation logarithmique : $y = -10,98 \ln(x) + 56,51$ ($R^2 = 0,72$) a été mise en évidence pour les espèces du genre *Turbinaria*. Le broutage (y) semble diminuer avec l'augmentation de la teneur en polyphénols ($y = 15,492e^{-0,2262x}$, $R^2 = 0,72$). En ce qui concerne le genre *Sargassum*, des relations différentes ont été obtenues. Une relation exponentielle semble relier les teneurs en CPs (x) et l'épiphytisme (y) ($y = 77,532e^{-0,0922x}$, $R^2 = 0,72$) et une relation linéaire a pu être mise en évidence entre le taux de broutage (y) et les teneurs en CPs (y) ($y = 0,5x + 5$).

III. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS POLAIRES ET APOLAIRES

L'importante perte en CPs lors des dialyses nous a conduit à ne considérer, dans ce présent rapport, que les extraits bruts pour les différents tests d'activités biologiques.

1. Activité antioxydante :

a) *Extraits polaires : composés phénoliques*

Turbinaria conoides présente les activités antioxydantes les plus élevées, même si le pouvoir antioxydant de l'extrait polaire de *T. conoides* de Nggela ($A = 19,71 \pm 2,02$ %) n'est pas supérieur de façon significative (test LSD) à celui de *T. decurrens* d'Anuta Paina Island ($A = 10,66 \pm 2,02$ %). Il existe une différence significative entre le pouvoir antioxydant de

T. decurrens d'Anuta Paina Island et celui de *T. decurrens* de Lau Lagoon ($A = 2,97 \pm 2,02 \%$) (KW : $p < 0,001$). De même pour les *T. conoides* : il existe une différence entre les valeurs de l'activité antioxydante de *T. conoides* de Nggela et de *T. conoides* de Lau Lagoon ($A = 25,21 \pm 2,02 \%$). L'activité antioxydante des composés phénoliques de *T. conoides* de Lau Lagoon est significativement supérieure à celles de *T. conoides* de Nggela (KW : $p < 0,001$) (Figure 6). Seuls deux extraits de *Sargassum* sur quatre montrent une activité antioxydante : *S. crassifolium* de Anuta Paina Island ($A = 0,44 \pm 0,47 \%$) et *S. cf. crassifolium* de Nggela NW ($A = 6,66 \pm 0,47 \%$). Les activités antioxydantes de ces deux extraits sont significativement différentes, (Kruskal-Wallis : $p=0,002$) (Figure 7). Une corrélation logarithmique entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante pour chaque genre a été établie (Tableau 3). L'activité antioxydante augmenterait avec la teneur en composés phénoliques, jusqu'à atteindre un plateau.

b) Extraits apolaires (chloroformiques) : acides gras

Il n'y a pas de différence significative entre les activités antioxydantes des différentes espèces de *Turbinaria* (Anova : $p = 0,57$) ni entre celles de *Sargassum* (Anova : $p = 0,97$).

Turbinaria présente une activité antioxydante de ses composés apolaires de 11% en moyenne, et *Sargassum* montre pour ses composés apolaires une activité antioxydante moyenne de 12%. (Annexe 5). Il n'y a pas de différence significative entre les activités antioxydantes des différentes espèces de *Sargassum* et celles de *Turbinaria* (Anova : $p = 0,92$).

c) Comparaison entre l'activité antioxydante des deux types d'extraits

Chez *T. ornata*, les composés apolaires montrent une activité antioxydante supérieure à celle des composés phénoliques. Le contraire est observé chez *T. conoides* de Lau Lagoon. Ces différences d'intensité d'activité antioxydante sont significatives à 95% (KW : $p=0,001$).

Au sein des *Sargassum*, le pouvoir antioxydant des composés apolaires est significativement supérieur à celui des composés phénoliques (KW : $p = 0,016$), sauf pour *S. cf. crassifolium* chez qui aucune différence significative n'est observée entre l'activité antioxydante des deux fractions (KW = 0,117).

2. Tests d'activités antibactériens en milieu terrestre

Aucune activité antibactérienne significative n'a été mise en évidence lors de cette première série de tests antibactériens sur 7 souches de bactéries terrestres, (Annexe 6). Tous les halos d'inhibition des extraits algaux (polaires et apolaires) sont ≤ 8 mm alors que ceux des antibiotiques sont > 10 mm.

3. Tests d'activités antibactériens en milieu marin

A ce jour, seuls les résultats des extraits polaires nous sont parvenus.

Les *Sargassacées* montrent, pour les extraits bruts polaires (composés phénoliques), une activité antimicrobienne dépendant de l'algue, du microorganisme et de la concentration de l'extrait (Annexe 7). La souche la plus sensible est *Polaribacter irgensii* et la plus résistante, *Vibrio*

aestuarianus. *V.aestuarianus* n'est sensible qu'à trois des onze extraits, et à des concentrations de $10\mu\text{g}.10\mu\text{L}^{-1}$ (C4, soit 1mg.mL^{-1}). *S. cristaefolium* et *T. decurrens* de Lau Lagoon sont actifs à $0,01\mu\text{g}.10\mu\text{L}^{-1}$ (C1, soit $1\mu\text{g.mL}^{-1}$) sur deux souches bactériennes chacun, *P.irgensii* et *P.elyakuvii* pour *S. cristaefolium* et *C.marina* et *P.irgensii* pour *T. decurrens*. Les 5 souches sont sensibles à l'extrait brut de *S. crassifolium* et l'extrait dialysé à 12-14 000 Da de *T. conoides* de Lau Lagoon, pour des concentrations supérieures ou égales à $1\mu\text{g}.10\mu\text{L}^{-1}$ (C3, soit $100\mu\text{g.mL}^{-1}$).

4. Autres tests d'activités biologiques

Seuls les tests de cytotoxicité contre les cellules Kb (contre le Carcinome de larynx) ont été reçus à ce jour.

Deux espèces de *Turbinaria* (*T. decurrens* et *T. conoides*) et trois espèces de *Sargassum* (*S. cristaefolium*, *S. crassifolium* et *S. cf. crassifolium*) présentent une activité cytotoxique contre les cellules Kb (Tableau 4). Il existe une variation spatiale de l'activité cytotoxique des espèces des genres *Turbinaria* et *Sargassum*. Pour le genre *Turbinaria*, seules les espèces provenant de Lau Lagoon possèdent un effet cytotoxique sur les cellules Kb, alors que pour le genre *Sargassum*, les espèces présentant une activité sont celles échantillonnées à Anuta Paina Island et Nggela NW (Tableau 4).

DISCUSSION

I. DETERMINATION CHIMIOTAXONOMIQUE DE QUELQUES ESPECES DU GENRE *TURBINARIA*

Les espèces du genre *Turbinaria* présentent une plasticité de leur morphologie en fonction du milieu dans lequel elles vivent. De nombreuses variétés par espèce sont décrites. D'après l'Algaebase, il existerait 30 espèces au sein du genre *Turbinaria* et 54 variétés. Pour *T. ornata* et *T. conoides* il y a respectivement 10 et 5 variétés décrites et inscrites dans cette base de données. Cela montre qu'il est difficile de délimiter ce taxon et qu'il existe une confusion taxonomique possible entre *T. ornata* et *T. conoides*. Une étude phylogénétique a été menée pour mieux comprendre les relations morphologiques et moléculaires ces deux espèces (Rohfritsch *et al.*, sous presse).

A l'heure actuelle, aucune étude chimiotaxonomique n'existe pour le genre *Turbinaria*. Pour les macroalgues en général et plus particulièrement pour les Phaeophyceae, très peu de travaux utilisent la diversité de métabolites primaires ou secondaires d'un genre comme marqueur(s) chimiotaxonomique(s) (Valls *et al.*, 1993 ; Kamenarska *et al.*, 2002). De plus, cette possible utilisation chimiotaxonomique des métabolites est généralement une des implications d'études de caractérisation moléculaire chez les algues brunes (Kamenarska, 2002) et les algues rouges

(Masuda, 2002 ; Miller, 2002). Aucune étude n'utilise la technique HRMAS comme outil de chimiotaxonomie, une seule l'utilise pour différencier une souche bactérienne mutante d'une souche non-mutante (Gudlavalleti *et al.*, 2006).

La méthode mise en place durant cette étude est donc innovante et permet de distinguer rapidement et à moindre coût deux espèces du genre *Turbinaria*. Néanmoins, elle nécessite un service RMN disposant d'une sonde HRMAS. De plus, les résultats ne sont, pour l'instant, valables que pour une région donnée : les Iles Salomon. Une série de manipulation sera donc menée sur *T. cf. conoides* et *T. cf. ornata* provenant de Nouvelle Calédonie afin de valider cette méthode.

II. TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES DES SARGASSACEAE DES ILES SALOMON

Les teneurs en composés phénoliques des *Sargassaceae* des Iles Salomon varient de 0,075 à 1,68% de matière sèche (MS) et sont en accord avec les données précédemment citées dans la littérature pour les espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria* (Annexe 8). Les teneurs en composés phénoliques de *Turbinaria* sont supérieures à celles de *Sargassum*, sauf *S. cf. oligocystum* qui montre des teneurs équivalentes à celle de *T. decurrens*, et supérieures à celles de *T. ornata*. Ces résultats sont en accord avec Stiger *et al.* (2004) qui ont montré que *Turbinaria ornata* produit généralement plus de composés phénoliques que *Sargassum mangarevense* (Grunow) Setchell. Ce phénomène s'expliquerait soit par la quantité de brouteurs dans le milieu, soit par la morphologie des thalles. A titre d'exemple, *T. ornata* produit plus de composés phénoliques sur le récif frangeant, riche en brouteurs et moins sur la crête récifale où l'hydrodynamisme est fort et où les brouteurs sont moins abondants. Ainsi, *T. ornata* développerait une défense chimique pour se protéger des herbivores. De plus, la morphologie des *Turbinaria* ressemble à un cylindre rigide (*cf.* page de garde), alors que le thalle des *Sargassum* est constitué d'un axe principal et de latérales souples et flexibles portant des frondes ; ainsi, *Sargassum sp.* protégerait de façon mécanique ses juvéniles et s'auto-protègerait du broutage (en balayant le substrat avec ses latérales), alors que *Turbinaria sp.*, du fait de son port dressé, mettrait en place une défense chimique pour protéger les recrues et les juvéniles des herbivores (Stiger *et al.*, 2004). Ces hypothèses restent à vérifier pour les *Sargassaceae* des Iles Salomon. Néanmoins, les pleuridies des *Turbinaria sp.* étaient plus abîmées (présence de perforations, de rainures) que les frondes des *Sargassum sp.* Le rôle des composés phénoliques dans les défenses des algues brunes contre le broutage a été très étudié dans la littérature : il existe plus de 500 publications sur ce sujet, dont près de 50 en moins de 10 ans, abordant les Fucales tropicales (Pereira et Yoneshigue-Valentin, 1999 ; Arnold et Targett, 2000 ; Pereira *et al.*, 2000, Stiger *et al.*, 2004 pour les plus récurrentes). Depuis ces 30 dernières années, il ressort des différents travaux publiés que les algues tropicales montrent des teneurs en composés

phénoliques inférieures à celles des régions tempérées (Steinberg, 1986 ; Pereira et Yoneshigue-Valentin, 1999 ; Zubia, 2003) alors qu'il y a plus de brouteurs en régions tropicales (Hay *et al.*, 1987 ; Hay et Fenical, 1988). De plus le rôle des composés phénoliques dans la lutte contre les herbivores est ambigu : certains auteurs démontrent que les composés phénoliques chez les Algues brunes tropicales sont des composés de défense contre le broutage (Van Alstyne, 1988 ; Yates et Peckol, 1993 ; Pavia *et al.*, 1997 ; Stiger *et al.*, 2004) et qu'ils seraient efficace à forte concentration (Van Alstyne et Paul, 1990 ; Pereira et Yoneshigue-Valentin, 1999) alors que ce rôle est controversé par d'autres auteurs (Steinberg, 1986 ; Steinberg *et al.*, 1991).

De plus, les Sargassaceae étudiées présentaient un épiphytisme différentiel : les espèces de *Sargassum* semblent plus épiphytées que celles de *Turbinaria* (observations personnelles). Les composés phénoliques joueraient donc un rôle dans la lutte contre l'épiphytisme, puisque plus les teneurs en composés phénoliques sont élevées, moins il n'y a d'épiphytes sur les algues brunes. Ceci est confirmé par la littérature : de nombreux auteurs ont souligné le rôle probable des composés phénoliques dans la lutte contre l'épiphytisme animale comme végétale (cytotoxicité des polyphénols, rôle antifouling, antimicroalgal...) (Ragan et Glombitza, 1986 ; Wisespongpan et Kuniyoshi, 2003).

Des variations interspécifiques et spatiales ont été mises en évidence. *T. ornata* présente les plus faibles teneurs en composés phénoliques au sein des *Turbinaria* et *T. conoides* les plus fortes. Ces deux espèces ne vivent pas dans le même biotope : la première vit entre 1 et 6m, dans un site calme, sur un fond corallien (Anuta Paina Island), alors que la seconde est située au niveau d'un récif-barrière à herbier de phanérogames, (au nord de Malaita : à Lau Lagoon) à environ 1 m de profondeur, dans une zone où il y a du courant. *T. decurrens* qui vit dans le même site que *T. ornata* présente une teneur en composés phénoliques supérieure à *T. decurrens* qui vit à Lau Lagoon, dans la zone intérieure de la passe (site calme, 1,5 à 3 m de profondeur, présence d'un herbier à phanérogames). Lorsqu'on compare les 2 échantillons de *Turbinaria conoides*, *T. conoides* de Lau Lagoon a des teneurs en composés phénoliques supérieures à celles des populations de Nggela. Etant donné que les individus de *T. conoides* vivent dans des milieux peu profonds, on peut penser que les composés phénoliques pourraient avoir un rôle photoprotecteur (*cf.* partie sur les activités antioxydantes). Cependant il faut remarquer que *T. conoides* de Nggela est présente en haut des rochers, au niveau d'une zone de ressac, une possible libération des composés phénoliques peut être envisagée. L'hypothèse d'une possible exudation des composés phénoliques chez les algues vivant au niveau de zone de ressac a déjà été mise en évidence chez différentes espèces (Jennings et Steinberg, 1994 ; Wernberg *et al.*, 1998 ; Stiger *et al.*, 2004). Il ne faut pas négliger une variation interspécifique puisque ces auteurs n'ont pas travaillé sur les mêmes espèces de Phaeophyceae. Néanmoins, pour *Sargassum*, l'espèce présentant les plus fortes teneurs

en composés phénoliques est une espèce provenant du même site que *T. conoides*. En 2004, Stiger *et al.* faisaient part d'observations inverses : une libération probable des composés phénoliques de *Sargassum mangarevense* au niveau de la barrière récifale extérieure (zone de balancement des marées) mais aucun changement dans les teneurs en composés phénoliques chez *Turbinaria ornata*, entre le récif frangeant et la barrière récifale extérieure. Les auteurs expliquaient ce phénomène par la différence morphologique des thalles, hypothèse qui reste à vérifier. La différence de nature des composés phénoliques au sein d'un même genre et même d'une même espèce en fonction des conditions du milieu semble une hypothèse plus appropriée. Cette différence de nature des composés phénoliques est confirmée par les résultats obtenus avec les deux dialyses. Toutes les *Sargassaceae* présentent une majorité des composés phénoliques dont le poids moléculaire est inférieur à 5000 Da. Ce sont donc des composés phénoliques de faibles poids moléculaires, ce qui diffère des Fucales tempérées qui présentent en majorité des polyphénols de grandes tailles : supérieure ou égale à 30 000 Da (Ragan, 1985 ; Ragan et Glombitza, 1986 ; Barwell *et al.*, 1989). Etant donné le faible poids moléculaire des composés phénoliques des *Sargassaceae* des Iles Salomon, il est possible d'envisager de les isoler et de les déterminer facilement. Il faudra néanmoins travailler avec des quantités de matière plus importantes vu les faibles teneurs mesurées. Chez les *Sargassum*, seule l'espèce vivant à Nggela présente des différences de teneurs en composés phénoliques entre la dialyse 5000 et celle à 12-14 000. Si cette espèce est une *S. crassifolium*, alors, il existerait un effet site sur la nature des composés phénoliques, qui pourrait être liée au rôle antioxydant de ces métabolites secondaires. En effet, seule *S. cf. crassifolium* montre des teneurs significativement supérieures aux autres espèces du genre *Sargassum* et du fait de sa position sur l'éstran, on peut envisager un rôle photoprotecteur de ces composés phénoliques (Anggadiredja *et al.*, 1997 ; Pavia *et al.*, 1997 ; Stachowicz et Lindquist, 1997 ; Pavia et Brock, 2000 ; Lim *et al.*, 2002 ; Swanson et Druehl, 2002 ; Macaya *et al.*, 2005). Chez les *Turbinaria*, ce sont les deux échantillons de *T. conoides* qui présentent les teneurs les plus élevées. *T. decurrens* présente des variations spatiales de la nature des composés phénoliques, puisque qu'il existe une différence significative entre les teneurs en composés phénoliques après dialyse à 5 000 et après dialyse à 12-14 000. Toujours chez *T. decurrens*, il n'y a pas de différence significative entre les deux sites d'échantillonnés (Anuta Paina Island et Lau Lagoon). De plus, la majorité des composés phénoliques de cette population (Lau Lagoon) est inférieure à 5 000 Da. Cette étude confirme des résultats préalablement acquis sur les variations spatiales des composés phénoliques ou/et les polyphénols, comme les autres métabolites secondaires (Ragan et Glombitza, 1986 ; Targett *et al.*, 1992). De même chez *T. conoides*, la taille, donc la nature des composés phénoliques varient en fonction de l'environnement (« effet site »).

Pour chaque genre, les teneurs en composés phénoliques semblent être corrélées de façon négative au pourcentage d'épiphytisme et de broutage estimés sur les thalles étudiés. Les individus présentant les teneurs en composés phénoliques les plus élevées sont les moins épiphytés et les moins broutés (régression de type exponentielle). Il apparaît donc que les composés phénoliques chez les *Sargassaceae* des Iles Salomon joueraient un rôle dans la défense chimique de l'algue contre les épiphytes et contre les brouteurs (micro-brouteurs principalement). Néanmoins ces observations sont basées sur une simple estimation des taux d'épiphytisme et de broutage, et des études plus poussées seraient à mener.

III. ACTIVITES BIOLOGIQUES DES SARGASSACEAE DES ILES SALOMON

1. Activité antioxydante

a) Composés polaires

Cette étude montre une corrélation significativement positive entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante, comme l'ont montré un grand nombre de travaux (Fujimoto et Kaneda, 1984 ; Nakamura *et al.*, 1996 ; Yan *et al.*, 1996 ; Pavia *et al.*, 1997 ; Rice-Evans *et al.*, 1997 ; Jiménez-Escrig *et al.*, 2001 ; Siriwardhana *et al.*, 2003 ; Zubia , 2003 ; Santoso *et al.*, 2004 ; Heo *et al.*, 2005 ; Siriwardhana *et al.*, 2005 ; Nakai *et al.*, 2006 ; Serevirathne *et al.*, 2006). En effet, les composés phénoliques (marins et terrestres) sont reconnus comme substances potentiellement antioxydantes ayant la capacité de piéger les radicaux libres et les formes réactives de l'oxygène tel que l'oxygène singulet dans les organismes. Des substances telles que la théine (en provenance du thé) ou les tannins du vin (raisins) sont d'ailleurs populairement connues comme étant antioxydantes. Les phlorotannins sont aussi capables d'absorber et donc de bloquer les radiations UV (Pavia *et al.*, 1997 ; Swanson et Druehl, 2002). Pavia et Brock (2000) ainsi que Pavia et Toth (2000) ont montré, entre autre, que les radiations UV, et notamment UV-B, induisent une production de polyphénols chez *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolie et *Fucus vesiculosus* Linnaeus.

De plus il est à noter que ce sont les Sargassaceae vivant dans les milieux les moins profonds qui présentent les plus fortes teneurs en composés phénoliques, et l'activité antioxydante la plus importante : *T. conoides* vit à Nggela comme à Anuta Paina Island, dans moins de 1m d'eau, de même que *S. crassifolium* de Anuta Paina Island et *S. cf. crassifolium* de Nggela. Néanmoins, *S. cristaefolium* qui vit dans le même milieu que *S. crassifolium* ne présente pas d'activité antioxydante pour les composés phénoliques. Or les teneurs en phlorotannins de ces deux espèces ne sont pas significativement différentes. Il existe donc probablement soit des différences qualitatives dans la nature de ces composés phénoliques influençant leur pouvoir antioxydant, soit des composés induisant un effet antagoniste à celles des substances antioxydantes. Cependant les

résultats de ce test appuient l'hypothèse du rôle antioxydant des phlorotannins au sein des systèmes biologiques en tant que composés de défense contre les radiations UV. En effet les radiations UV et notamment UV-B, sont connues comme étant responsables du stress oxydatif.

Il est relativement difficile de comparer les données de cette étude avec celles de la littérature. En effet, pour le genre *Sargassum*, il existe une assez grande variation dans le choix des solvants d'extraction et dans celle de la méthode de mesure de l'activité antioxydante, alors que le genre *Turbinaria* n'a été que très peu étudié : seulement deux publications trouvées à ce jour (Annexe 9).

Toutefois, des auteurs tel que Matsukawa *et al.* (1997), Yan *et al.* (1998), Lim *et al.* (2002), Wei et Yu (2002) et Zubia (2003) indiquent de fortes activités antioxydantes pour le genre *Sargassum* (de 50 à 90 % pour des extraits alcooliques polaires), alors que les *Sargassum* des Iles Salomon présentent des valeurs d'activités antioxydantes inférieures à 10% voir même nulles pour deux espèces sur quatre. Dans ces travaux, il s'agit (à part *Sargassum mangarevense*, étudiée par Zubia (2003)) d'espèces d'origine tempérée, ce qui pourrait expliquer les différences d'activités antioxydantes. Néanmoins, Kang *et al.* (2004) ont montré que les extraits méthanoliques de *Sargassum cinereum* J. Agardh, *Sargassum miyabei* Yendo et *Sargassum thumbergii* (Mertens ex Roth) Kuntze (Sargassaceae tempérées) induiraient une production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) (valeurs négatives obtenues lors du test DCFH-DA : Dichlorofluorescein diacetate). Ces résultats expliquerait les valeurs nulles obtenues pour les espèces du genre *Sargassum* des Iles Salomon. Cependant, les résultats de Kang *et al.* (2004) sont en contradiction avec ceux de Matsukawa *et al.* (1997) et de Wei et Yu (2002) qui montrent que *S. thumbergii* présente pour des extraits éthanoliques une forte activité antioxydante (80- 90%, test DPPH). Il faut toutefois souligner qu'il ne s'agit ni des mêmes solvants ni des mêmes protocoles d'activités. De même l'activité antioxydante moyenne de *T. ornata* en Polynésie Française est de 83% (Zubia, 2003) alors qu'aux Iles Salomon elle est réduite à 0,13%. Le solvant utilisé dans cette étude est du méthanol 50% alors que Zubia (2003) utilise de l'éthanol 50%. Les travaux de Fujimoto et Kaneda (1980), Matsukawa *et al.* (1997), Anggadiredja *et al.* (1997), Yan *et al.* (1998) montrent que les extraits méthanoliques présentent les plus fortes activités antioxydantes, mais il s'agit de méthanol non dilué contrairement à l'étude présentée ici. Ainsi, le choix du solvant pourrait expliquer les différences observées.

De même, la conservation et le transport des algues pourrait expliquer ces différences entre les données de la littérature et celles observées au cours de cette étude. Anggadiredja *et al.* (1997) ont montré que les thalles frais de *Sargassum polycystum* C.A. Agardh présentent une activité antioxydante significative contrairement aux thalles séchés au soleil. De plus, Zubia (2003) remarque que le transport des algues de Polynésie Française vers la métropole induirait une

diminution de leurs activités antioxydantes. Dans notre cas, les algues ont été reçues lyophilisées. Ce conditionnement n'a pas l'air de jouer sur les teneurs en composés phénoliques (Le Lann, résultats non présentés ici), mais il pourrait induire des variations de l'activité antioxydante des extraits.

b) Composés apolaires

Les activités antioxydantes des composés apolaires (lipidiques) des Sargassaceae ont été relativement peu étudiées. Les résultats obtenus lors de cette étude sont cohérents avec ceux de Yan *et al.* (1998) pour les extraits au chloroforme : l'activité antioxydante des Sargassaceae des îles Salomon est de 11-12% environ, celles de *Sargassum thumbergii* et *Sargassum kjellmanianum* Yendo (Yan *et al.*, 1998) se situent autour de 15%. Cependant Anggadiredja *et al.* (1997) et Mori *et al.* (2003) ont respectivement trouvé pour *Sargassum polycystum* C.A. Agardh et *Sargassum micracanthum* (Kützinger) Endlicher, des activités antioxydantes nettement supérieures aux valeurs indiquées ci-dessus. De même, Fujimoto et Kaneda (1980) montrent que les extraits chloroformiques de *Sargassum kjellmanianum* possèdent une forte activité antioxydante tout comme *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell (Phaeophyceae, Alariaceae) et *Ishige okamurae* Yendo (Phaeophyceae, Ishigeaceae). Chez Yan *et al.* (1998), les extraits méthanoliques et aqueux de *S. thumbergii* et de *S. kjellmanianum* montrent une activité antioxydante supérieure aux extraits chloroformiques. Or, par rapport aux extraits méthanoliques précédemment traités, le pouvoir antioxydant des composés apolaires des Sargassaceae est globalement supérieur pour les espèces de *Sargassum*, pour *T. conoides* de Lau Lagoon et pour *T. ornata*, et sont équivalents pour *T. decurrens* et *T. conoides* de Nggela. Néanmoins, Mori *et al.* (2003) ont montré une équivalence d'activité antioxydante des extraits au chloroforme et méthanol. Les composés apolaires pourraient assurer la protection antioxydante des espèces de *Sargassum* et de *T. ornata*. Pour les autres *Turbinaria*, il faudrait des recherches supplémentaires pour déterminer le rôle exact de chaque type de composés. De plus l'effet antioxydant des composés apolaires (acides gras et/ou phospholipides) pourrait être le résultat d'une action synergétique (Fujimoto et Kaneda, 1980) ce qui est confirmé par les travaux de Le Tutour *et al.* (1998) qui ont montré chez plusieurs espèces de Fucales tempérées que les composés apolaires (pigments apolaires, lipides neutres, acides gras insaturés...) permettent d'augmenter l'action antioxydante de la vitamine E (ou tocophérol). Néanmoins, ces auteurs ont mis en évidence que des extraits similaires chez *Laminaria digitata* (Hudson) J.V. Lamouroux récoltée en hiver induisaient une synergie négative avec la vitamine E.

2. Activité antibactérienne

a) *Souches terrestres*

Les extraits hydrométhanoliques comme les extraits chloroformiques des espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria* testées ne présentent aucune activité antibactérienne significative. Ce qui n'est pas le cas de nombreuses espèces de *Sargassaceae* chez lesquelles une activité contre une ou plusieurs bactéries a souvent été mise en évidence (Annexe 10). Néanmoins ces résultats sont difficilement comparables étant donné que les méthodes utilisées sont différentes. Le choix du protocole d'extraction et plus particulièrement celui du solvant est très important. En effet selon sa polarité, les composés extraits ne sont pas les mêmes. Il ressort des travaux étudiant la variabilité de l'activité antibactérienne en fonction du solvant d'extraction, que parmi les solvants les plus couramment utilisés, les alcools (éthanol, méthanol) sont plus efficaces que les solvants apolaires (chloroforme, dichlorométhane) (Sreenivasa et Parekh, 1981 ; Sreenivasa Rao *et al.*, 1986 ; Sastry et Rao, 1994 ; Mahasneh *et al.*, 1995 ; Arun Kumar et Rengasamy, 2000 a, b ; Freile-Pelegrin et Morales, 2004), sauf chez *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt (Hellio *et al.*, 2000) : l'extrait au dichlorométhane est plus actif que l'extrait à l'éthanol sur *Serratia marcescens* (gram négatif).

Toutefois les résultats de ces différents travaux sont très variables et sont fonction de l'espèce algale étudiée ainsi que de la souche bactérienne considérée. De plus d'autres facteurs tel que le conditionnement de l'algue (Sreenivasa et Parekh, 1981 ; Sreenivasa Rao *et al.*, 1986), la saison de récolte (Sreenivasa et Parekh, 1981 ; Padmakumar et Ayyakkannu, 1997 ; Arun Kumar et Rengasamy, 2000a) et les conditions environnementales de son habitat (Kubo *et al.*, 1992 ; Arun Kumar et Rengasamy, 2000a) peuvent influencer les résultats des tests antibactériens. En outre, les activités antibactériennes varieraient en fonction de la partie du thalle considéré (Vlachos *et al.*, 1999). Il est aussi à souligner qu'à ma connaissance, le potentiel antibactérien des espèces de *Sargassaceae* considérées ici a été très peu étudié. Il ressort de ces travaux que *T. ornata* et *S. crassifolium* possèdent des composés actifs contre *E. coli* et *S. aureus* (Anggadiredja *et al.*, 1996), *T. ornata* contre *S. aureus* (Padmakumar et Ayyakkannu, 1997 ; Zubia, 2003) et *T. conoides* contre *S. aureus* (Padmakumar et Ayyakkannu, 1997) et contre *Xanthomonas sp.* (Arun Kumar et Rengasamy, 2000a,b). D'après Padmakumar et Ayyakkannu (1997), *T. deccurens* ne présente aucune activité antibactérienne (15 souches terrestres testées). Ainsi changer le protocole d'extraction de même que les solvants utilisés permettraient peut être de déceler des activités contre des bactéries terrestres chez les *Sargassaceae* des Iles Salomon.

De plus la méthode utilisée pour faire ce screening est discutable. En effet, les souches utilisées se sont révélées ne pas être extrêmement pures, quelque fois contaminées et certaines ne poussaient pas correctement lors de l'incubation à 37°C. De plus la quantité de produit déposé sur les disques est plus faible que dans d'autres méthodes (inclusion, dilution) et la lecture des boîtes

reste subjective. En effet, la mesure du diamètre d'inhibition s'effectue à la règle à travers la boîte de pétri et il arrive aussi que le film bactérien soit très faible et à peine visible. Néanmoins cette méthode est rapide et simple à mettre en place et à effectuer. Cependant, il serait judicieux de mettre en place des tests antibactériens avec la méthode de dilution, afin d'avoir des résultats plus rigoureux, plus homogènes et plus objectifs. En outre il faudrait pousser plus loin l'investigation sur les activités antibactériennes, d'une part en testant les extraits sur d'autres souches bactériennes terrestres telle que *Xanthomonas sp.* qui est sensible aux extraits de *Sargassum wightii* Greville et de *Turbinaria conoides* (Arun Kumar et Rengasamy, 2000a,b) ou *Vibrio sp.* sensible à *T. conoides* et *T. ornata* (Padmakumar et Ayyakkannu, 1997) et d'autre part en fractionnant les extraits. En effet des activités contre des bactéries (souvent à gram négatif) ont été décelées dans des extraits fractionnés d'espèces de Sargassaceae (Sreenivasa Rao *et al.*, 1988 ; Anggadiredja *et al.*, 1996). De plus, d'après Sreenivasa Rao et Parekh (1981), Sreenivasa Rao *et al.*, (1988) et Arun Kumar et Rengasamy (2000b), il y aurait dans les extraits non fractionnés des composés inhibiteurs masquant les composés actifs. En 1996, Anggadiredja *et al.* ont identifié certaines de ces substances actives chez *T. ornata* et *S. crassifolium*, comme étant des triterpènes aromatiques. Plus récemment, Arun Kumar *et al.* (2005) ont isolé et caractérisé le principe actif de *S. wightii* contre le phytopathogène *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* comme étant un sulphoglycérolipide.

En outre, il serait intéressant de pouvoir mener d'autre part un screening antibactérien mensuel afin de déterminer à quelle période de l'année, la récolte des algues est la plus avantageuse, et d'autre part de rechercher dans quelle partie de l'algue le principe actif est le plus exprimé. Cependant ce dernier point ainsi que le fractionnement, la purification et la caractérisation des éventuels composés actifs ne sont pas envisageables dans l'optique d'une valorisation industrielle de ces composés naturels car cela serait trop complexe et trop onéreux.

b) Souches marines

Contrairement aux souches terrestres, les souches marines utilisées pour les tests antibactériens effectués à l'Université de Portsmouth (School of Biological Science) présentent une sensibilité aux extraits hydrométhanoliques des Sargassaceae des Iles Salomon. Au sein de la famille des Sargassaceae, il ne semble pas qu'un des deux genres étudiés (*Sargassum* ou *Turbinaria*) possède plus ou moins d'extraits actifs. Les bactéries à gram négatif (*P. irgensii*, *P. elyakuvii* et *C. marina*) semblent plus sensibles que *S. putrefaciens*, bactérie à gram positif. Cela n'est pas en accord avec les travaux de Hellio *et al.* (2001) où les extraits d'*Ascophyllum nodosum* et de *Sargassum muticum* sont plus actifs sur des bactéries à Gram positif que sur des bactéries à Gram négatif. Mais dans cette étude seule la forme des souches bactériennes a été identifiée (Rod ou Coccus) et en 2004, Hellio *et al.* ne détectent pas de sensibilité différente, aux extraits de

A. nodosum et *S. muticum*, entre les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif. Ainsi, l'efficacité d'un extrait dépend de sa concentration, de l'algue duquel il est issu et de la souche bactérienne testée.

En ce qui concerne *Vibrio sp.*, trois études précédentes montrent que ce genre bactérien est sensible aux extraits des espèces de *Sargassum*. Deux de ces travaux traitent de *Vibrio harveyi* (Chotigeat *et al.*, 2004 ; Huang *et al.*, 2006) et Yeh *et al.*, (2006) étudient l'impact *in vivo* d'extraits aqueux de *Sargassum duplicatum* sur le système immunitaire de la crevette blanche *Litopenaeus vannamei* en présence de *Vibrio alginolyticus*. Ainsi il est relativement difficile de comparer ces résultats avec ceux obtenus pour les Sargassaceae des Iles Salomon, où la souche de *Vibrio* testée est *V. aestuarianus*.

L'activité antibactérienne des extraits d'algues tempérées est saisonnière (Hellio *et al.*, 2004 ; Maréchal *et al.*, 2004), il serait donc intéressant de faire un suivi mensuel afin de déterminer si une variation saisonnière des activités antibactériennes existe chez les Sargassaceae tropicales. En effet, à ma connaissance aucun travail traitant ce sujet n'a été effectué. Néanmoins, si *A. nodosum* et *Bifurcata bifurcata* R. Ross présentent des variations saisonnières vis-à-vis des activités antibactériennes (Hellio *et al.*, 2004 ; Maréchal *et al.*, 2004), l'espèce *S. muticum* (Sargassaceae tempérée) montre une activité stable tout au long de l'année (Hellio *et al.*, 2004). Il se peut donc que l'activité antibactérienne des extraits de Sargassaceae soit indépendante de la saison.

En outre le potentiel antibactérien des algues tropicales contre des souches marines n'a été que très peu étudié (une seule référence trouvée : Engel *et al.*, 2006). Ces auteurs ont testé, entre autre, la sensibilité de *Pseudoalteromonas bacteriolytica* vis-à-vis d'extraits hydrophiles et lipophiles de 4 espèces de *Sargassum* des Bahamas (Atlantique tropical nord-ouest). Trois de ces quatre espèces présentent des composés ayant une activité contre *P. bacteriolytica*. A ceci se rajoute le fait que, dans les études précédentes, la concentration minimum d'inhibition d'un extrait d'algue brune est compris entre 6 et 48 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Hellio *et al.*, 2001, 2004 ; Maréchal *et al.*, 2004), alors que sept des onze extraits des espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria* testés sont actifs à $1\mu\text{g.mL}^{-1}$. Les extraits de *Sargassum* et de *Turbinaria* issus des océans tropicaux semblent donc posséder un fort potentiel de substances actives contre les bactéries marines.

Il serait donc intéressant de poursuivre ce screening antibactérien sur plus de bactéries mais aussi avec des algues provenant d'autres régions du Pacifique Sud afin de déceler une éventuelle variation géographique dans le potentiel antibactérien des extraits algaux. En effet les activités antibactériennes des extraits d'algues vis-à-vis de souches de bactéries terrestres peuvent varier d'un milieu à l'autre (Kubo *et al.*, 1992 ; Arun Kumar et Rengasamy, 2000a).

Mais déjà au sein des îles Salomon, il semble se dégager un effet site : 4 bactéries sont sensibles aux extraits bruts de *T. conoides* de Nggela : *C. marina*, *V. aestuarianus*, *P. irgensii* et *P.*

elyakuvii, contre 3 pour *T. conoides* de Lau Lagoon : *P. irgensii*, *putrefaciens* et *P. elyakuvii*. *C. marina* est sensible aux extraits de *T. decurrens* de Lau Lagoon dès $1\mu\text{g.mL}^{-1}$ alors que sa croissance n'est inhibée qu'à partir de 1mg.mL^{-1} avec les extraits issus de *T. decurrens* de Anuta Paina Island. Pour *P. elyakuvii*, le contraire est observé : les extraits de *T. decurrens* de Lau Lagoon ne sont actifs qu'à partir de 1mg.mL^{-1} , alors que ceux de *T. decurrens* d'Anuta Paina Island le sont dès $10\mu\text{g.mL}^{-1}$.

3. Autres activités biologiques intéressantes

A part les activités antioxydantes et antibactériennes, les Sargassaceae peuvent aussi présenter des extraits aux propriétés antitumorales (Deslandes *et al.*, 2000), anticoagulante (Abdel-Fattah *et al.*, 1973 in Zubia, 2003), cytotoxique (Parent-Massin *et al.*, 1998), antivirale (Santos *et al.*, 1999, Chotigeat *et al.*, 2004), antifongique (Caccamese et Azzolina, 1979 ; Reichelt et Borowitzka, 1984 ; Padmakumar et Ayakkannu, 1997 ; Hellio *et al.*, 2000 ; Hellio *et al.*, 2004 ; Engel *et al.*, 2006), antiprotozoaire (Reichelt et Borowitzka, 1984), antialgale (Hellio *et al.*, 2002, 2004).

Certains extraits ont une action contre l'installation de larves de balanes (Hellio *et al.*, 2004) et/ou inhibent le développement de levures (Reichelt et Borowitzka, 1984 ; Hellio *et al.*, 2000). Un même extrait peut être pluriactif : la plupart de ces études testent un large spectre d'action des extraits algaux obtenus (antialgal, antilarvaire, et/ou antimicrobien, ...) (Caccamese et Azzolina, 1979 ; Reichelt et Borowitzka, 1984 ; Padmakumar et Ayakkannu, 1997 ; Hellio *et al.*, 2000 ; Hellio *et al.*, 2004 ; Engel *et al.*, 2006).

A cela peut s'ajouter dorénavant le caractère anticancéreux de certaines espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria*. En effet, les tests de cytotoxicité ont révélé que les extraits hydrométhanoliques de *T. conoides*, *T. decurrens*, *S. cristaefolium*, *S. crassifolium* et *S. cf. crassifolium* sont actifs contre les cellules Kb du carcinome du larynx. L'extrait de *T. ornata* ne montre aucune activité ce qui est en contradiction avec l'étude menée par Deslandes *et al.* (2000) où un composé assimilé à un fucane sulfaté issu de l'extrait hydroéthanolique de *T. ornata* de Polynésie Française (Tahiti) présente des propriétés d'anti-prolifération vis-à-vis des cellules tumorales du carcinome broncho-pulmonaire. Cependant, il semble exister une variation géographique de la teneur et de la nature des substances actives. En effet chez les Sargassaceae des Iles Salomon, ne sont actifs que les extraits des *Turbinaria sp.* vivant à Lau Lagoon ; les extraits de *T. conoides* et de *T. decurrens* d'Anuta Paina Island ne montrent aucun effet cytotoxique. Néanmoins il est troublant de remarquer le contraire pour les *Sargassum sp.* Seul l'extrait de *S. cf. echinocarpum* de Lau Lagoon est non actif contre les cellules Kb.

Les recherches sont donc à poursuivre afin de déterminer s'il existe réellement un effet site (ce qui est fortement probable) et si la saison peut influencer les propriétés cytotoxiques des extraits algaux. Prochainement, l'isolement et la caractérisation des substances actives sont à prévoir. En 1988, Parent-Massin *et al.*, rapportent que les différents extraits aqueux de *T. ornata* ne montrent aucun effet cytotoxique ou méiolitique sur le système hématopoïétique. Les mêmes vérifications sont à envisager afin de pouvoir envisager l'utilisation des substances actives des Sargassaceae en cancérologie.

CONCLUSION

Les résultats de cette étude, récapitulés en Annexe 11, montrent que les Sargassaceae des Iles Salomon présentent des composés phénoliques de faibles poids moléculaires qu'il serait intéressant de pouvoir isoler et caractériser, ainsi que des composés biologiquement actifs. Il conviendra, lorsque tous les résultats d'activités nous seront parvenus, de mener des études qualitatives sur ces composés en choisissant les extraits les plus actifs par activité. Enfin, des études en collaboration avec des industries du domaine de la cosmétique et/ou de l'agriculture ou de la région pacifique-sud pourraient être mise en place afin de valoriser ces algues localement.

En ce qui concerne la chimiotaxonomie du genre *Turbinaria*, la caractérisation des acides gras, ainsi que la validation de cette méthode avec des individus de *T. cf. ornata* et de *T. cf. conoides* est en cours. De plus, l'adaptation de cette méthode pourrait être envisagée avec le genre *Sargassum*, même si la résolution des spectres HRMAS n'est pas bonne, les profils des spectres RMN des extraits chloroformiques (non présentés ici) de *S. cf. crassifolium* et de *S. crassifolium* sont semblables et différents de ceux de *S. cristaefolium* et de *S. cf. echinocarpum*, ce qui confirme le fait que *S. cf. crassifolium* est bien une *S. crassifolium*. En outre, l'extraction au chloroforme pourra être remplacée par une extraction au dichlorométhane, solvant moins toxique.

Ainsi, les résultats obtenus pour ce premier volet géographique du programme AFD, qui en compte 3, sont très prometteurs et doivent être poursuivis. En effet, les résultats à venir, tests d'activités et autres volets géographiques (Fidji et Cook), pourraient venir augmenter le nombre de résultats positifs facilitant la valorisation future de ces espèces dans le Pacifique Sud.

BIBLIOGRAPHIE

- Anggadiredja J, Andyani R, Hayati, Muawanah (1997) Antioxidant activity of *Sargassum polycystum* (Phaeophyta) and *Laurencia obtusa* (Rhodophyta) from Seribu Islands. *Journal of Applied Phycology* 9: 477-479
- Anggadiredja J, Hasanudin, Sidiq AS, Pratomo A, Rudyansyah (1996) Screening of marine algae from Warambadi of Sumba Island of Indonesia for antibacterial activity. *Phytomedicine* 3: 37
- Arnold TM, Targett NM (2000) Evidence for metabolic turnover of polyphenolics in tropical brown algae. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1393-1410
- Arun Kumar K, Rengasamy R (2000a) Evaluation of antibacterial potential of seaweeds occurring along the coast of Tamil Nadu, India against the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishiyama) Dye. *Botanica Marina* 43: 409-415
- Arun Kumar K, Rengasamy R (2000b) Antibacterial activities of seaweed extracts/fractions obtained through a TLC profile against the phytopathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Bot Mar* 43: 417-421
- Barwell CJ, Blunden G, Manandhar PD (1989) Isolation and characterization of brown algal polyphenols as inhibitors of α -amylase, lipase and trypsin. *J Appl Phycol* 1: 319-323
- Caccamese S, Azzolina R (1979) Screening for antimicrobial activities in marine algae from eastern Sicily. *Planta medica (Journal of Medicinal Plant Research)* 37: 333-339
- Caccamese S, Azzolina R, Furnari G, Cormaci M, Grasso S (1980) Antimicrobial and antiviral activities of extracts from mediterranean algae. *Bot Mar* 23: 285-288
- Chotigeat W, Tongsupa S, Supamataya K, Phongdara A (2004) Effect of fucoidan on disease resistance of Black Tiger Shrimp. *Aquaculture* 233: 23-30
- Connan S (2004) Etude de la diversité spécifique des macroalgues de la pointe de la Bretagne et analyse des composés phénoliques des Phéophycées dominantes. Thèse de Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale
- Deslandes E, Pondaven P, Auperin T, Roussakis C, Guezennec J, Stiger V, Payri C (2000) Preliminary study of the *in vitro* antiproliferative effect of a hydroethanolic extract from the subtropical seaweed *Turbinaria ornata* (Turn J. Agardh) on a human non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6). *J Appl Phycol* 12: 257-262
- Engel S, Puglisi MP, Jensen PR, Fenical W (2006) Antimicrobial activities of extracts from tropical Atlantic marine plants against marine pathogens and saprophytes. *Marine Biology* (sous presse)
- Fleury BG, Kelecom A, Periera RC, Teixeira VL (1994) Polyphenols, terpenes and sterols in Brazilian Dictyotales and Fucales (Phaeophyta). *Bot Mar* 37: 457-462

- Freile-pelegrin Y, Morales JL (2004) Antibacterial activity in marine algae from the coast of the Yucatan, Mexico. *Bot Mar* 47: 140-146
- Fujimoto K, Kaneda T (1980) Screening test for antioxygenic compounds from marine algae and fractionation from *Eisenia bicyclis* and *Undaria pinnatifida*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 46: 1125-1130
- Gudlavalleti S, Szymanski CM, Jarrell HC, Stephens DS (2006) *In vivo* determination of *Neisseria meningitidis* serogroup A capsular polysaccharide by whole cell high-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy. *Carbohydrate Research* 341: 557-562
- Harrison PG, Durance C (1989) Seasonal variation in phenolic content of eelgrass shoots. *Aquatic Botany* 35: 409-413
- Hay ME, Fenical W (1988) Marine plant-herbivore interactions: the ecology of chemical defense. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 11-145
- Hay ME, Fenical W, Gustafson K (1987) Chemical defense against diverse coral-reef herbivores. *Ecology* 68: 1581-1591
- Hellio C, Berge JP, Beaupoil C, Le Gal Y, Bourgougnon N (2002) Screening of marine algal extracts for anti-settlement activities against microalgae and macroalgae. *Biofouling* 18: 205-215
- Hellio C, Bremer G, Pons AM, Le Gal Y, Bourgougnon N (2000) Inhibition of the development of microorganisms (bacteria and fungi) by extracts of marine algae from Brittany, France. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54: 543-549
- Hellio C, De la Broise D, Dufosse L, Le Gal Y, Bourgougnon N (2001) Inhibition of marine bacteria by extracts of macroalgae: potential use for environmentally friendly antifouling paints. *Marine Environment Research* 52: 231-247
- Hellio C, Maréchal J-P, Véron B, Bremer G, Clare AS, Le Gal Y (2004) Seasonal variation of antifouling activities of marine algae from the Brittany coast (France). *Mar Biotech* 6: 67-82
- Heo S-J, Park E-J, Lee K-W, Jeon Y-J (2005) Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource technology* 96: 1613-1623
- Huang X, Zhou H, Zhang H (2006) The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish & Shellfish Immunology* 20: 750-757
- Jennings JG, Steinberg PD (1994) *In situ* exudation of phlorotannins by the sublittoral kelps *Ecklonia radiata*. *Mar Biol* 121: 349-354
- Jennings JG, Steinberg PD (1997) Phlorotannins *versus* other factors affecting epiphyte abundance on the kelp *Ecklonia radiata*. *Oecologia* 109: 461-473

- Jiménez-Escrig A, Jiménez-Jiménez I, Pulido R, Saura-Calixto F (2001) Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 530-534
- Joshi GV, Gowda CA (1975) Seasonal variation in chemical composition of *Sargassum ilicifolium* Grun. and seawater. *Ind J Mar Sci* 4: 165-168
- Kamenarska Z, Dimitrova-Konalieva S, Stefanov K, Najdenski H, Tzvetkova I, Popov S (2002) Comparative study on volatile compounds from some black sea brown algae. *Bot Mar* 45: 502-509
- Kang HS, Chung HY, Kim JY, Son BW, Jung HA, Choi JS (2004) Inhibitory phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive oxygen species (ROS) generation. *Arch Pharm Res* 27: 194-198
- Kesava Rao C, Untawale AG (1991) Polyphenols content of Indian seaweeds. *Mahasagar* 24: 99-102
- Kubo I, Himejima M, Muroi H, Ichikawa N (1992) Antibacterial activity of crinitol and its potentiation. *Journal of Natural Products* 55: 780-785
- Le Tutour B, Benslimane F, Gouleau MP, Gouygou JP, Saadan B, Quemeneur F (1998) Antioxidant and prooxidant activities of the brown algae, *Laminaria digitata*, *Himanthalia elongata*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* and *Ascophyllum nodosum*. *J Appl Phycol* 10: 121-129
- Lim SN, Cheung PCK, Ooi VEC, Ang PO (2002) Evaluation of antioxidative activity of extracts from a brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J Agric Food Chem* 50: 3862-3866
- Macaya EC, Rothausler E, Thiel M, Molis M, Wahl M (2005) Induction of defenses and within-alga variation of palatability in two brown algae from the northern-central coast of Chile: effects of mesograzers and UV radiation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* (sous presse)
- Mahasneh I, Jamal M, Kashashneh M, Zibdeh M (1995) Antibiotic activity of marine algae against multi-antibiotic resistant bacteria. *Microbios* 83: 23-26
- Maréchal J-P, Culiolib G, Hellio C, Thomas-Guyonc H, Callowd ME, Clarea AS, Ortalo-Magné A (2004) Seasonal variation in antifouling activity of crude extracts of the brown alga *Bifurcaria bifurcata* (Cystoseiraceae) against cyprids of *Balanus amphitrite* and the marine bacteria *Cobetia marina* and *Pseudoalteromonas haloplanktis*. *J Exp Mar Biol Ecol* 313: 47-62
- Masuda M, Kawaguchi S, Abe T, Kawamoto T, Suzuki M (2002) Additional analysis of chemical diversity of the red algal genus *Laurencia* (Rhodomelaceae) from Japan. *Phycological research* 50: 135-144

- Matsukawa R, Dubinsky Z, Kishimoto E, Masaki K, Masuda Y, Takeushi T, Chihara M, Yamamoto Y, Niki E, Karube I (1997) A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweeds. *J Appl Phycol* 9: 29-35
- Miller IJ (2002) Taxonomic implications of the chemical structures of galactans from two species of the genus *Trematocarpus*. *Bot Mar* 45: 432-437
- Mori J, Matsunaga T, Takahashi S, Hasegawa C, Saito H (2003) Inhibitory activity on lipid peroxidation of extracts from marine brown alga. *Phytotherapy Research* 17: 549-551
- Nakai M, Kagayama N, Nakahara K, Miki W (2006) Phlorotannins as radical scavengers from the extract of *Sargassum ringgoldianum*. *Marine Biotechnology* 0: 1-6
- Nakamura T, Nagayama K, Uchida K, Tanaka R (1996) Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fisheries Science* 62: 923-926
- Padmakumar K, Ayyakkannu K (1997) Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from Southern Coasts of India. *Botanica Marina* 40: 507-515
- Parent-Massin D, Deslandes E, Payri C (1998) Effects on hematopoietic progenitors of 15 extracts from marine macroalgae: *Turbinaria ornata* and *Sargassum mangarevense*. *Toxicology letters* Toledo 5/95: 19-27
- Pavia H, Brock E (2000) Extrinsic factors influencing phlorotannin production in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Mar Ecol Prog Ser* 193: 285-294
- Pavia H, Cervin G, Lingren A, Aberg P (1997) Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Mar Ecol Prog Ser* 157: 139-146
- Pavia H, Toth G (2000) Influence of light and nitrogen on the phlorotannin content of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. *Hydrobiologia* 440: 299-305
- Pereira RC, Cavalcanti DN, Teixeira VL (2000) Effects of secondary metabolites from the tropical Brazilian brown alga *Dictyota menstrualis* on the amphipod *Parhyale hawaiiensis*. *Mar Ecol Prog Ser* 205: 95-100
- Pereira RC, Yoneshigue-Valentin Y (1999) The role of polyphenols from the tropical brown alga *Sargassum furcatum* on the feeding by amphipod herbivores. *Bot Mar* 42: 441-448
- Ragan MA (1985) The high molecular weight polyphloroglucinols of the marine brown alga *Fucus vesiculosus* L.: degradative analysis. *Canadian Journal of Chemistry* 63: 294-303
- Ragan MA, Glombitza K-W (1986) Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Phycological Research* 4: 129-241
- Reichelt JL, Borowitzka MA (1984) Antimicrobial activity from marine algae: Result of a large screening program. *Hydrobiologia* 116/117: 158-167
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science* 2: 152-159

- Rohfritsch A, Payri C, Stiger V et Bonhomme F (2006) Molecular and morphological relationships between two closely related species, *Turbinaria ornata* and *T. conoides* (Sargassaceae, Phaeophyceae). *Biochemical Systematic and Evolution* (sous presss)
- Santoso J, Yoshie-Stark Y, Suzuki T (2004) Anti-oxidant activity of methanol extracts from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Fisheries science* 70: 183-188
- Senevirathne M, Kim S-H, Siriwardhana N, Ha J-H, Lee K-W, Jeon Y-J (2006) Antioxidant potential of *Ecklonia cava* on reactive oxygen species scavenging, metal chelating, reducing power and lipid peroxidation inhibition. *Food Science and technology International* 12: 27-38
- Siriwardhana N, Lee K-W, Jeon Y-J (2005) Radical scavenging potential of hydrophilic phlorotannins of *Hizikia fusiformis*. *Algae* 20: 69-75
- Siriwardhana N, Lee K-W, Jeon Y-J, Kim S-H, Haw J-W (2003) Antioxydant activiitiy of *Hizikia fusiformis* on reactive oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibition. *Food Sci Tech Int* 9: 339-3346
- Sreenivasa Rao P, Parekh KS (1981) Antibacterial activity of Indian seaweed extracts. *Bot Mar* 24: 577-582
- Sreenivasa Rao PP, Sreenivasa Rao P, Karmarkar SM (1986) Antibacterial substances from brown algae. Efficiency of solvents in the evaluation of antibacterial substances from *Sargassum johnstonii* Setchell et Gardner. *Bot Mar* 29: 503-507
- Sreenivasa Rao PP, Sreenivasa Rao P, Karmarkar SM (1988) Antibacterial activity from Indian Species of *Sargassum*. *Bot Mar* 31: 295-298
- Stachowicz JJ, Lindquist N (1997) Chemical defense among hydroids on pelagic *Sargassum*: predator deterrence and absorption of solar UV radiation by secondary metabolites. *Food Sci Tech Int* 155: 115-126
- Steinberg PD (1986) Chemical defenses and the susceptibility of tropical marine brown algae to herbivores. *Oecologia* 69: 628-630
- Steinberg PD, Edyvane K, De nys R, Bridsey R, Van altena IA (1991) Lack of avoidance of phenolic rich brown algae by tropical herbivorous fishes. *Mar Biol* 109: 335-343
- Stiger V (1997) Contribution à l'étude de la biologie des populations de deux grandes algues brunes *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh et *Sargassum mangarevense* (Grunow) Setchell, proliférant sur les récifs de la Polynésie française. Thèse de Doctorat de l'Université Française du Pacifique
- Stiger V, Deslandes E, Payri CE (2004) Phenolic contents of two brown algae, *Turbinaria ornata* and *Sargassum mangarevense* on Tahiti (French Polynesia): interspecific, ontogenic and spatio-temporal variations. *Bot Mar* 47: 402-409

- Swanson AK, Druehl LD (2002) Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquatic Botany* 73: 241-253
- Targett NM, Coen LD, Boettcher AA, Tanner CE (1992) Biogeographic comparisons of marine algal polyphenolics: evidence against a latitudinal trend. *Oecologia* 89: 464-470
- Valls R, Piovetto L, Praud A (1993) The use of diterpenoids as chemotaxonomic markers in the genus *Cystoseira*. *Hydrobiologia* 260-261: 549-556
- Van Alstyne KL (1988) Herbivore grazing increases polyphenolic defenses in the intertidal brown alga *Fucus distichus*. *Ecology* 69: 655-663
- Van alstyne KL (1995) Comparison of three methods for quantifying brown algal polyphenolic compounds. *Journal of Applied Ecology* 21: 45-58
- Van alstyne KL, Paul VJ (1990) The biogeography of polyphenolic compounds in marine macroalgae: temperate brown algal defenses deter feeding by tropical herbivorous fishes. *Oecologia* 84: 158-163
- Vlachos SV, Critchley AT, Von Holy A (1999) Differential antibacterial activity of extracts from selected Southern African macroalgal thalli. *Bot Mar* 42: 165-173
- Wei Y, Shuguang Y (2002) Studies on the antioxidative activity of ethanolic extract from two kinds of brown algae. *Marine Sciences/ Haiyang Kexue* 26: 49-51
- Wernberg-Moller T, Thomsen MS, Staehr PA (1998) Phenology of *Sargassum muticum* (Phaeophyta, Fucales) in Limfjorden. The 10th Marine Research Conference. Roskilde University, Hirtshals (Denmark)
- Wispongpan P, Kuniyoshi M (2003) Bioactive phloroglucinols from the brown alga *Zonaria diesingiana*. *J Appl Phycol* 15: 225-228
- Yan X, Li X, Chengxu Z, Xiao F (1996) Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *J Appl Phycol* 8: 201-203
- Yan X, Nagata T, Fan X (1998) Antioxidative activities in some common seaweeds. *Plant Foods for Human Nutrition* 52: 253-262
- Yates JL, Peckol P (1993) Effects of nutrient availability and herbivory on polyphenolics in the seaweed *Fucus vesiculosus*. *Ecology* 74: 1757-1766
- Yeh S-T, Lee C-S, Chen J-C (2006) Administration of hot-water extract of brown seaweed *Sargassum duplicatum* via immersion and injection enhances the immune resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology* (sous presse)
- Zubia M (2003) La valorisation industrielle des algues brunes invasives (Fucales) de Polynésie française : étude prospective pour lutter contre leur prolifération et contribuer à la gestion durable de l'environnement récifal. Thèse de Doctorat de l'Université de Polynésie française

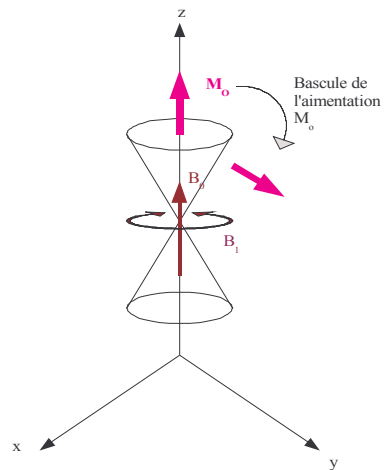


Figure 1 : schéma des champs magnétiques appliqués sur les noyaux lors d'une séance de RMN, et leur répartition en cône autour du champ magnétique statique B_0 .

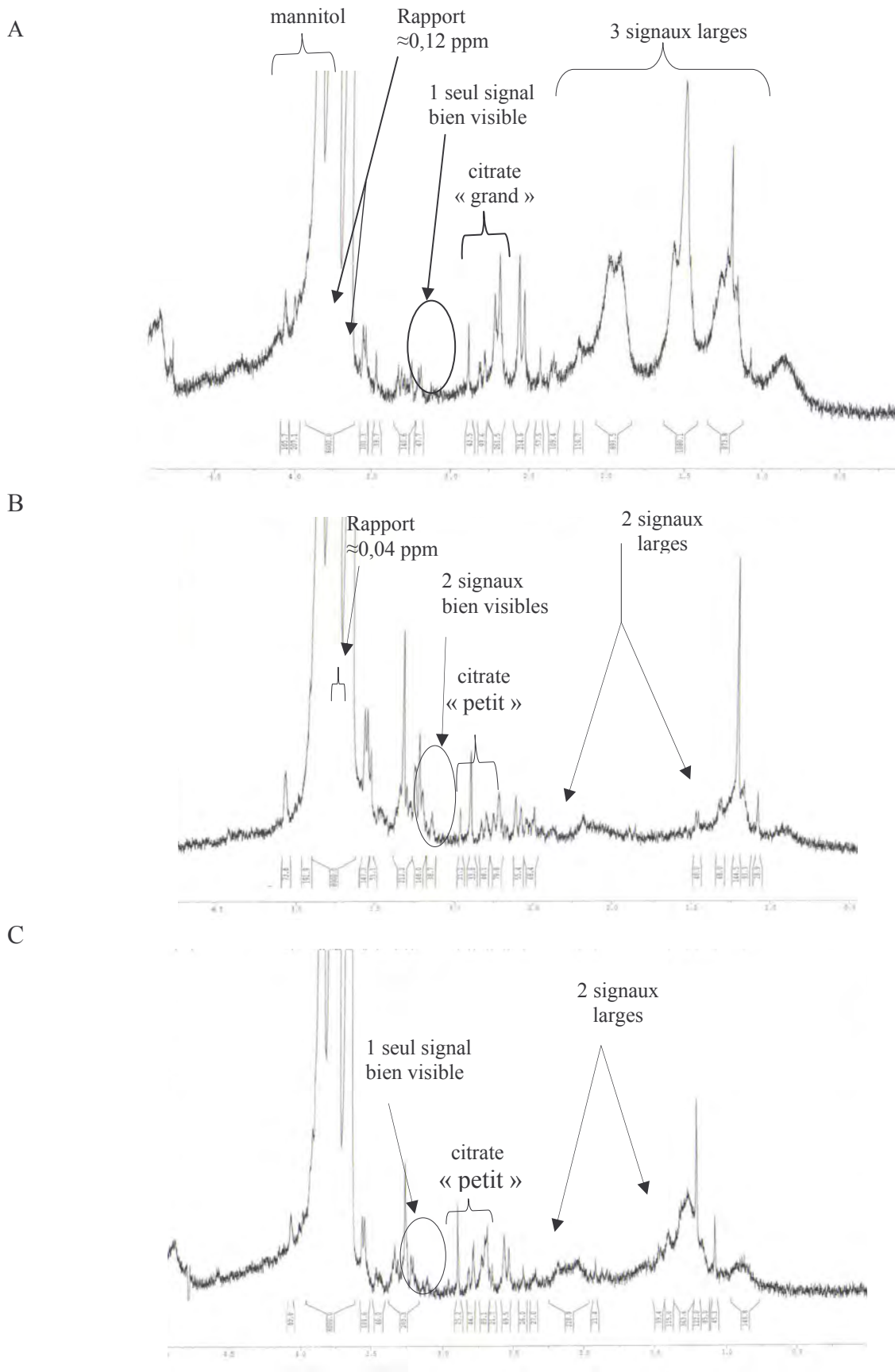
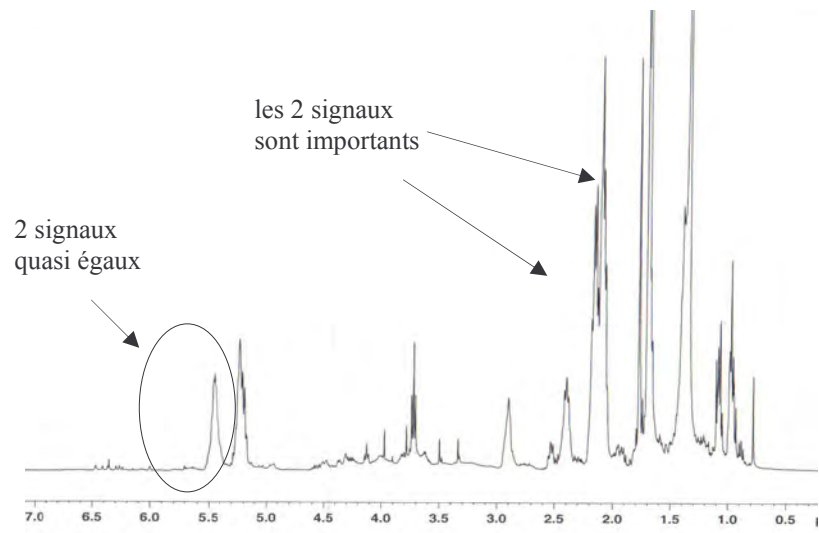
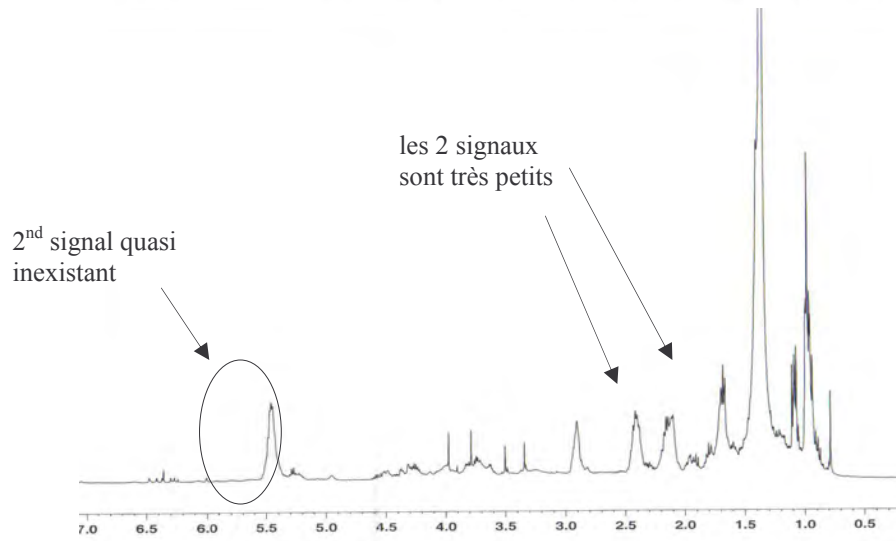


Figure 2 : Spectres HRMAS de *Turbinaria conoides*(A), *T. ornata*(B) et *T. decurrens* (C).

A



B



C

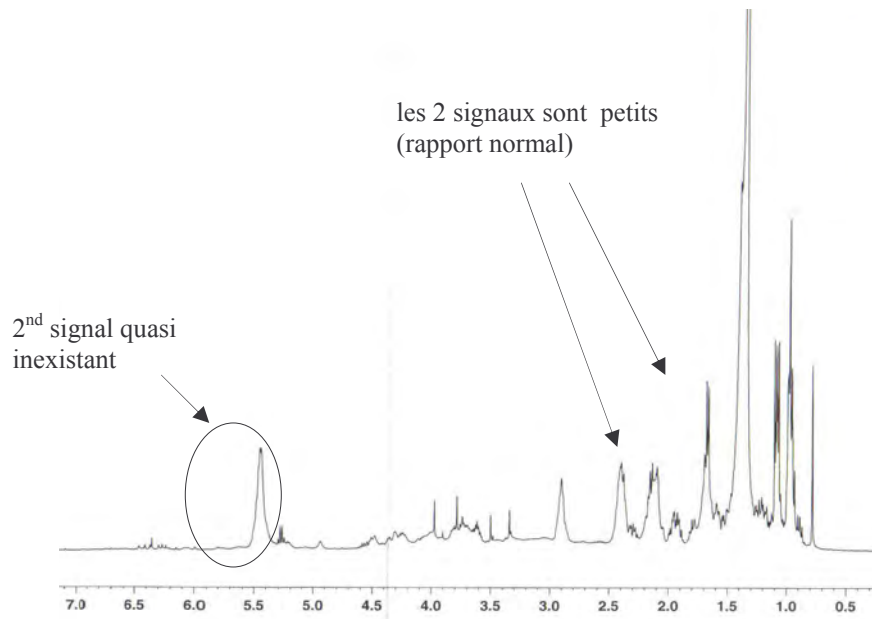


Figure 3 : Spectres RMN de *Turbinaria conoides* (A), *T. ornata* (B) et *T. decurrens* (C).

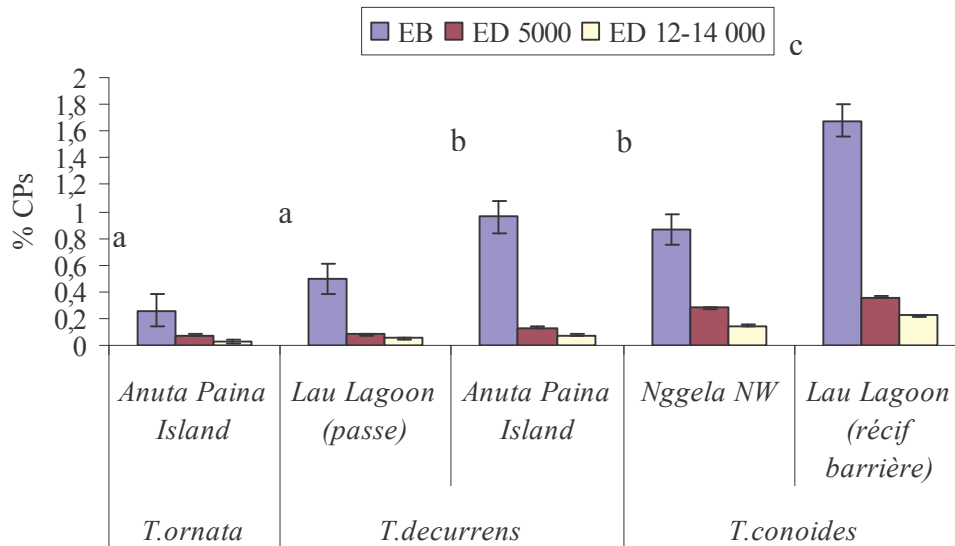


Figure 4 : Variations interspécifiques et spatiales des teneurs moyennes en composés phénoliques, exprimées en % de composés phénoliques par gramme de matière sèche (% CPs), des extraits bruts (EB) et des extraits dialysés avec des membranes de 5000 Da (ED 5000) et de 12-14 000 Da (ED 12-14000), au sein du genre *Turbinaria*. Les lettres (a, b et c) indiquent les différences significatives, (Anova : $p < 0,001$; test LSD, Fisher) pour les extraits bruts (EB).

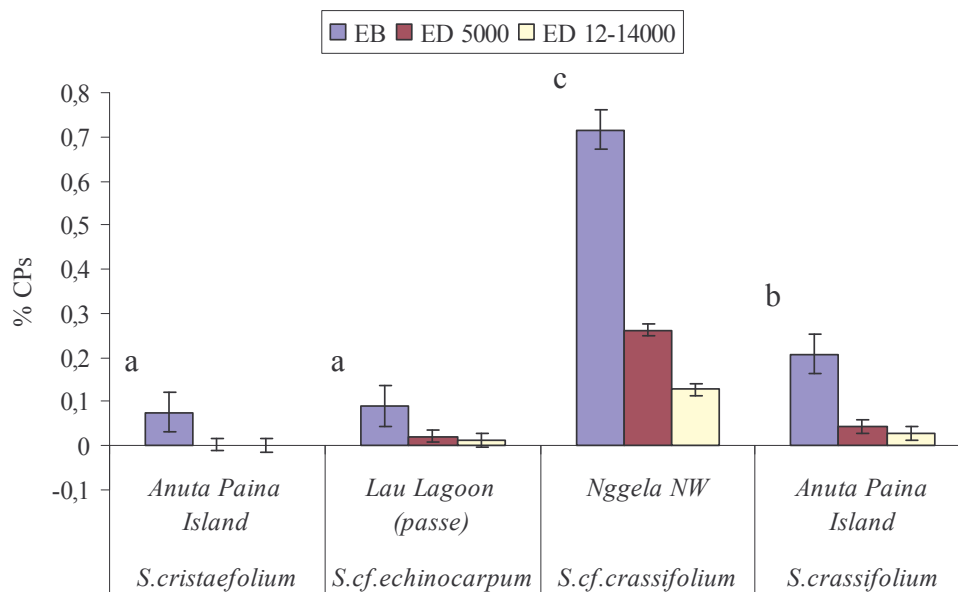


Figure 5 : Variations interspécifiques et spatiales des teneurs moyennes en composés phénoliques, exprimées en % de composés phénoliques par gramme de matière sèche (% CPs), des extraits bruts (EB) et des extraits dialysés avec des membranes de 5000 Da (ED 5000) et de 12-14 000 Da (ED 12-14000), au sein du genre *Sargassum*. Les lettres (a,b et c) indiquent les différences significatives, (Anova : $p < 0,001$; test LSD, Fisher) pour les extraits bruts (EB).

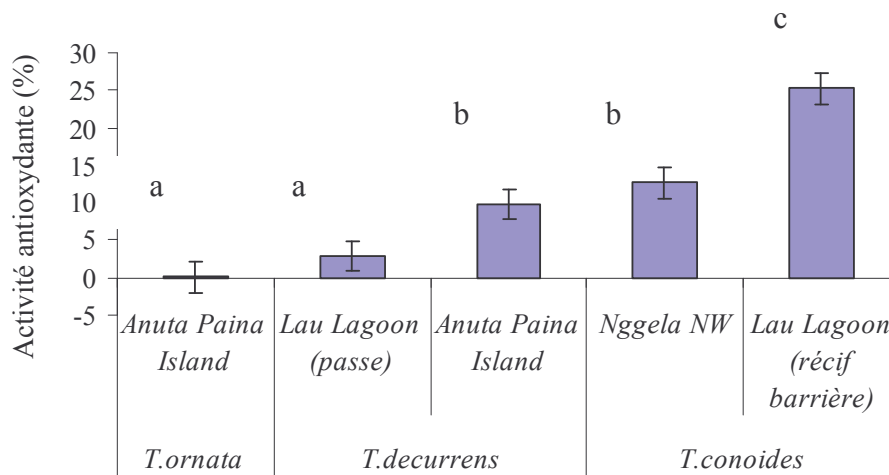


Figure 6 : Variations interspécifiques et spatiales des activités antioxydantes des extraits polaires de différentes espèces de *Turbinaria*. Les valeurs indiquées par une même lettre ne sont pas significativement différentes (test LSD de Fisher).

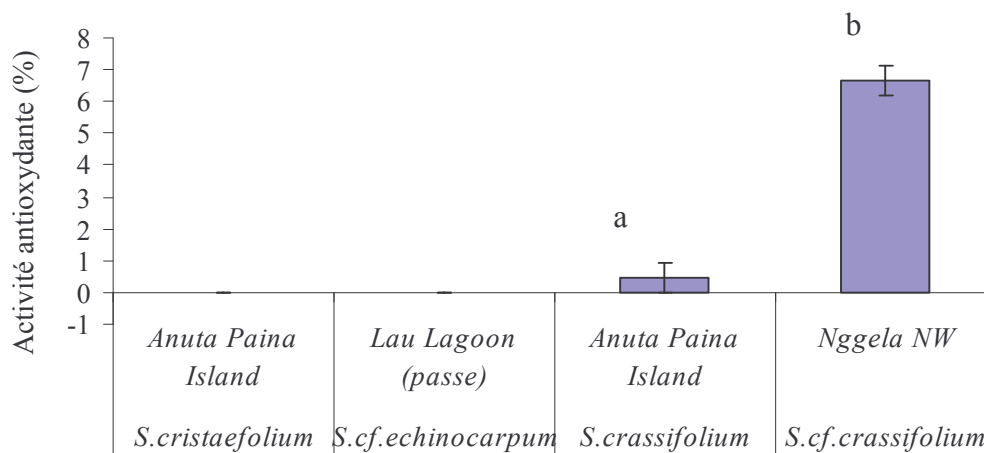


Figure 7 : Variations interspécifiques et spatiales des activités antioxydantes des extraits polaires de différentes espèces de *Sargassum*. Les lettres indiquent les différences significatives (Kruskal-Wallis : $p=0,002$).

Tableau 3.: Equations illustrant les relations entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante pour les genres *Turbinaria* et *Sargassum* des Iles Salomon.

genre	Equation	Coefficient de corrélation
<i>Turbinaria</i>	$y = 13,04 + 27,62 * \log(x)$	$r = 0,88$ ($p < 0,001$)
<i>Sargassum</i>	$y = 6,85 + 6,77 * \log(x)$	$r = 0,95$ ($p < 0,001$)

Tableau 4 : résultats du test contre le cancer du larynx (ou carcinome) pour les extraits polaires (composés phénoliques) des Sargassaceae des Iles Salomon. Un extrait est considéré comme actif si la mesure de la cytotoxicité est supérieure à 50.

<u>Sargassaceae</u>	site	10 μ g.mL ⁻¹	1 μ g.mL ⁻¹	activité
<i>T. ornata</i>	Anuta Paina Island	< 50	< 50	non
<i>T. decurrens</i>	Lau Lagoon (passe)	50	10	Oui à 10μg.mL⁻¹
	Anuta Paina Island	< 50	< 50	non
<i>T. conoides</i>	Nggela NW	< 50	< 50	non
	Lau Lagoon (récif barrière)	72	0	Oui à 10μg.mL⁻¹
<i>S. cristaefolium</i>	Anuta Paina Island	100	24	Oui à 10μg.mL⁻¹
<i>S. cf. echinocarpum</i>	Lau Lagoon (passe)	< 50	< 50	non
<i>S. crassifolium</i>	Anuta Paina Island	54	0	Oui à 10μg.mL⁻¹
<i>S. cf. crassifolium</i>	Nggela NW	64	16	Oui à 10μg.mL⁻¹

Liste des annexes

Annexe 1

Liste des espèces de *Sargassaceae* récoltées aux Iles Salomon et leur écologie

Annexe 2

Protocoles d'extraction (Figure A) et de dosage (Figure B) des composés phénoliques

Annexe 3 :

Protocole d'extraction des composés apolaires

Annexe 4

Protocoles des tests DPPH pour les composés polaires (Figure A) et les composés apolaires (Figure B)

Annexe 5

Activité antioxydante des extraits apolaires des différentes espèces de *Turbinaria* (Figure A) et de *Sargassum* (Figure B)

Annexe 6

Activités antibactériennes des extraits polaires (Tableau A) et des extraits apolaires (Tableau B) des espèces de Sargassacées étudiées sur des souches terrestres

Annexe 7

Activité antibactérienne des composés phénoliques contenus dans les extraits bruts sur des souches marines

Annexe 8

Teneurs moyennes en composés phénoliques d'espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria* de différentes régions tropicales et subtropicales

Annexe 9

Synthèse de l'étude bibliographique sur les activités antioxydantes et/ou antiradicalaire des genres *Sargassum* et *Turbinaria*

Annexe 10

Synthèse de l'étude bibliographique sur les activités antibactériennes des genres *Sargassum* et *Turbinaria* pour quelques genres bactériens classiquement étudiés

Annexe 11

Tableau récapitulatif des données obtenues lors de cette étude

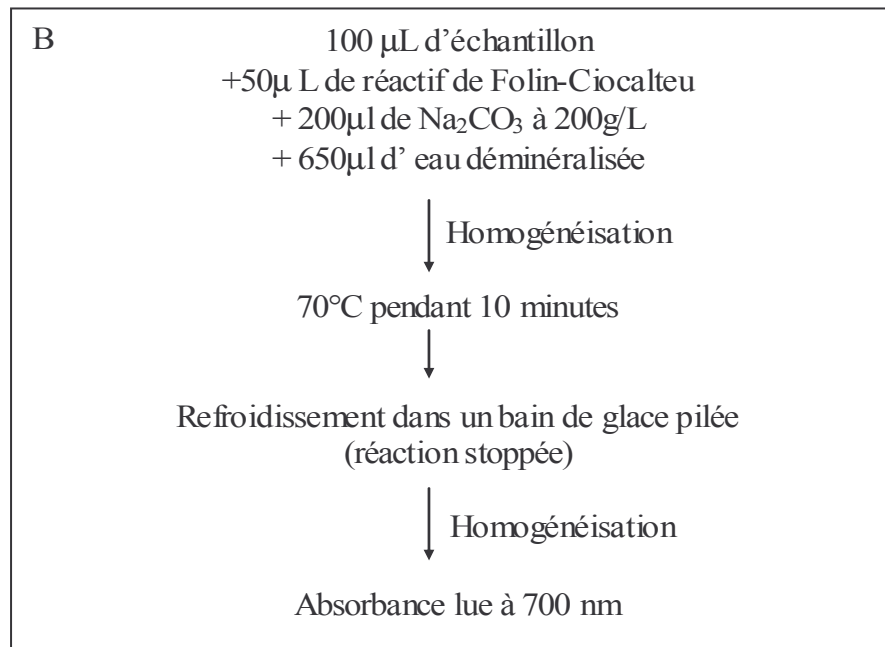
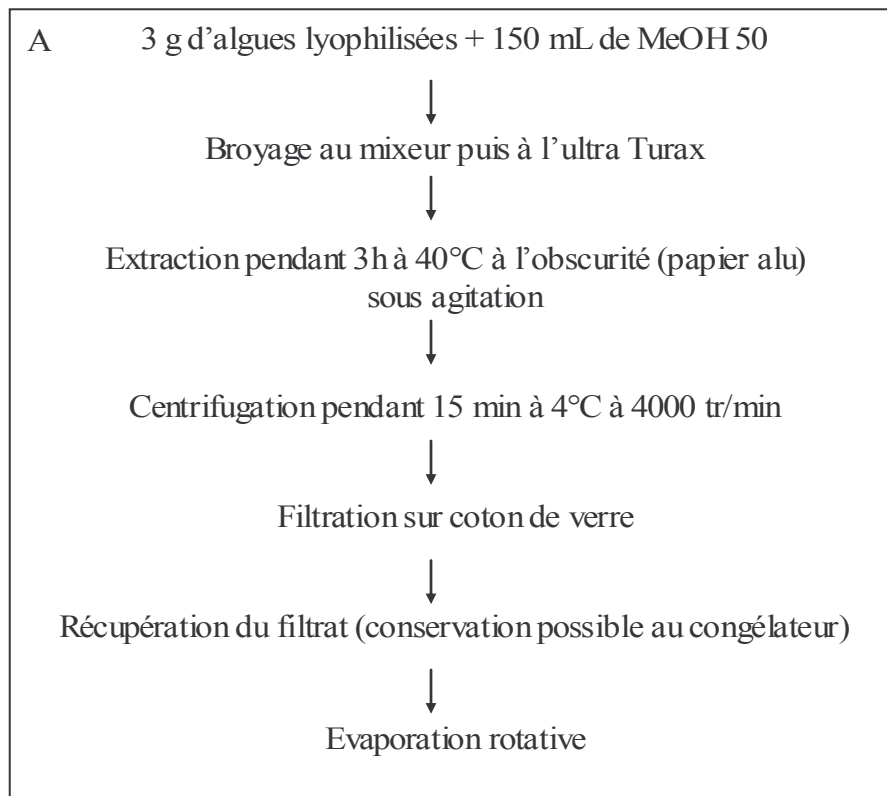
Annexe 1

Liste des espèces de *Sargassaceae* récoltées aux Iles Salomon et leur écologie

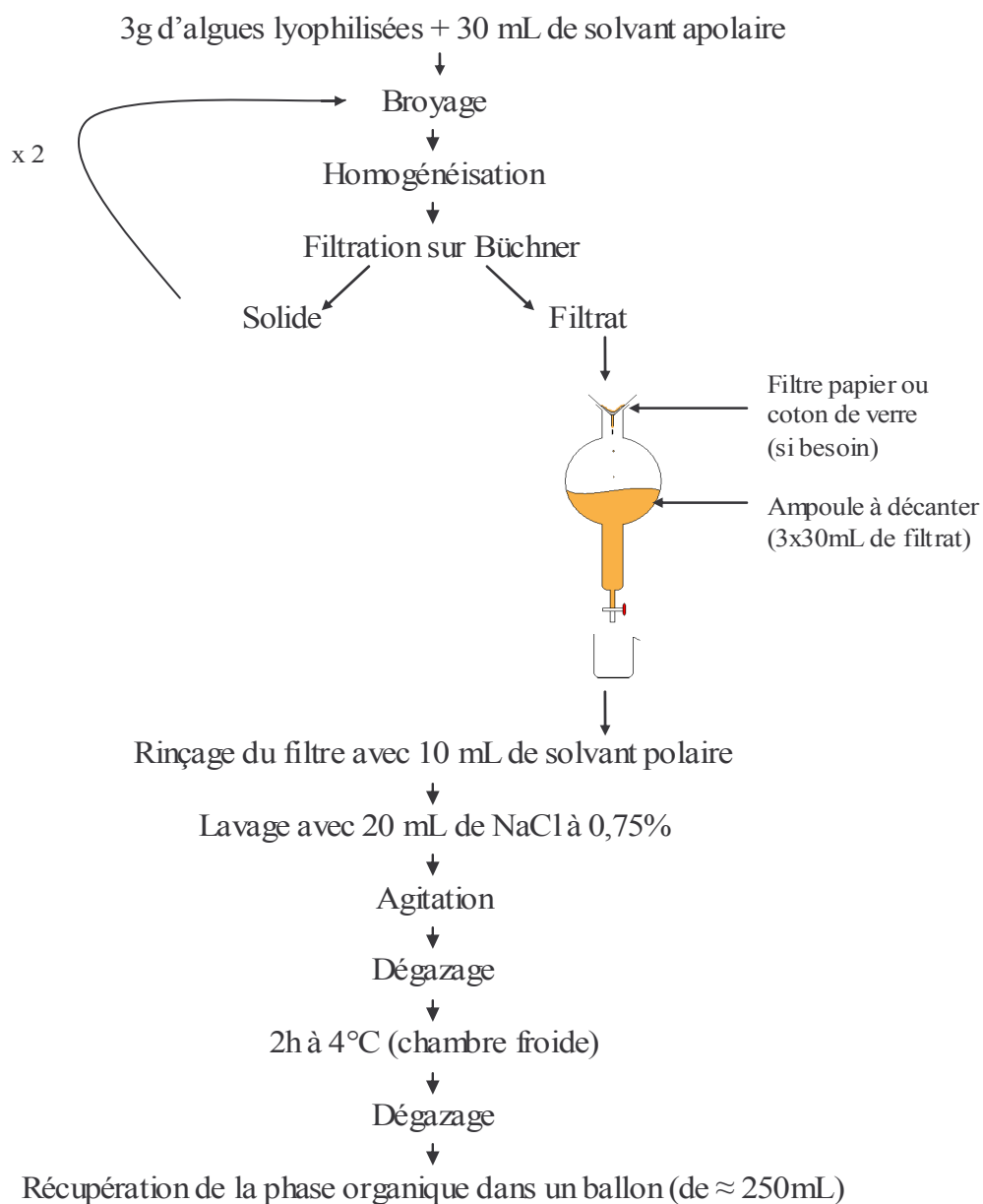
Genre	espèce	Numéro du spécimen	date	lieu	milieu	mode	profondeur
<i>Turbinaria</i>	<i>ornata</i>	S.852-741	18/07/04	Malaita, côte est. Anuta Paina Island	Fond corallien	calme	1 à 6m
	<i>decurrens</i>	S.848-685	16/07/04	Malaita nord. Lau Lagoon	Bord de platier. Zone interne de la passe. Herbier à phanérogammes.	calme	1,5 à 3m
	<i>decurrens</i>	S.850-740	18/07/04	Malaita, côte est. Anuta Paina Island	Fond corallien	calme	1 à 6m
	<i>conoides</i>	S.842-566	12/07/04	Nggela NW	Platier frangeant côtier. Haut des rochers. Zone de ressac	+/- agité	0,5 à 0,8 m
	<i>conoides</i>	S.850-702	17/07/04	Malaita nord. Lau Lagoon	Récif-barrière à herbier à phanérogamme	courant	1m
<i>Sargassum</i>	<i>cristaeifolium</i>	S.852-748	18/07/04	Malaita, côte est. Anuta Paina Island	Zone côtier du platier corallien	agité	1m
	<i>cf.echinocarpum</i>	S.848-686	16/07/04	Malaita nord. Lau Lagoon	Bord de platier. Zone interne de la passe. Herbier à phanérogammes.	Calme	1,5 à 3m
	<i>cf.crassifolium</i>	S.852-562	12/07/04	Nggela NW	Platier frangeant côtier. Haut des rochers. Zone de ressac	+/- agité	0,5 à 0,8 m
	<i>crassifolium</i>	S.852-742	18/07/04	Malaita, côte est. Anuta Paina Island	Zone côtier du platier corallien	agité	1m

Annexe 2

Protocoles d'extraction (Figure A) et de dosage (Figure B) des composés phénoliques



Annexe 3:
Protocole d'extraction des composés apolaires

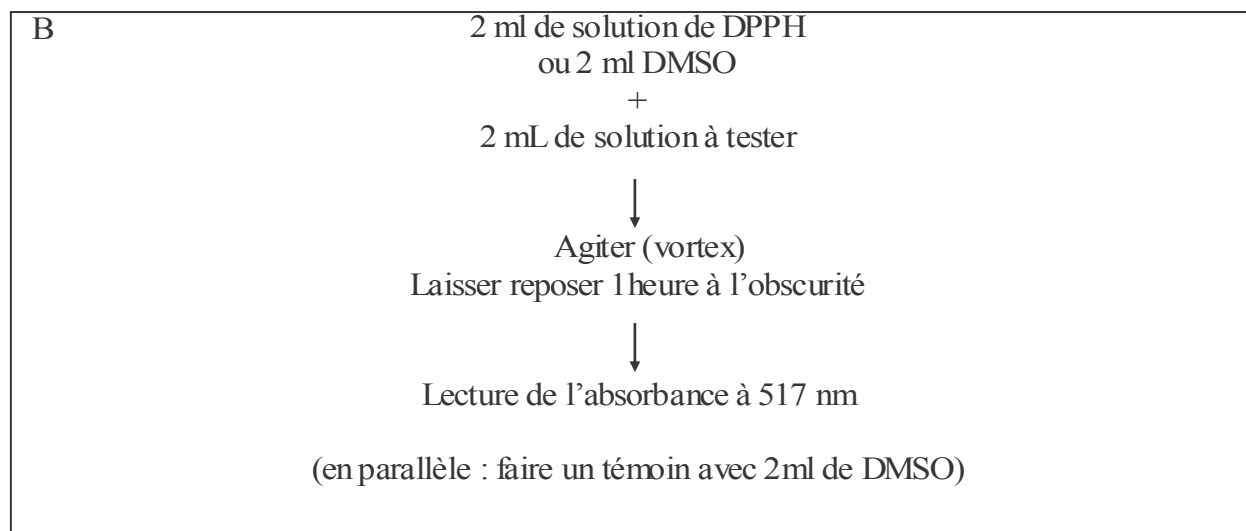
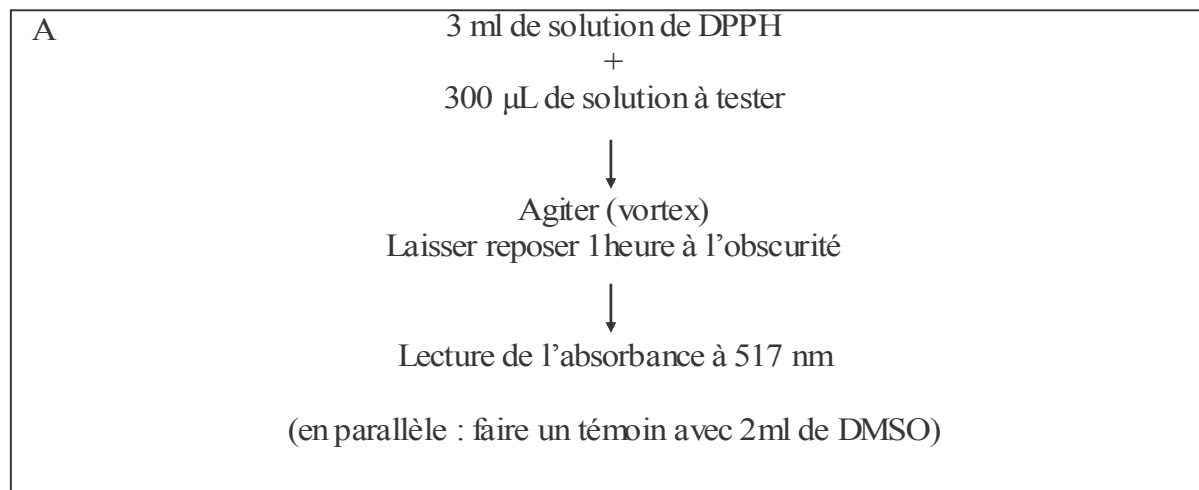


↓

Protocole d'extraction modifié par Le Lann, de Floch *et al* (1957), modifié par IFREMER et de Caccamèse *et al* (1979 et 1985).

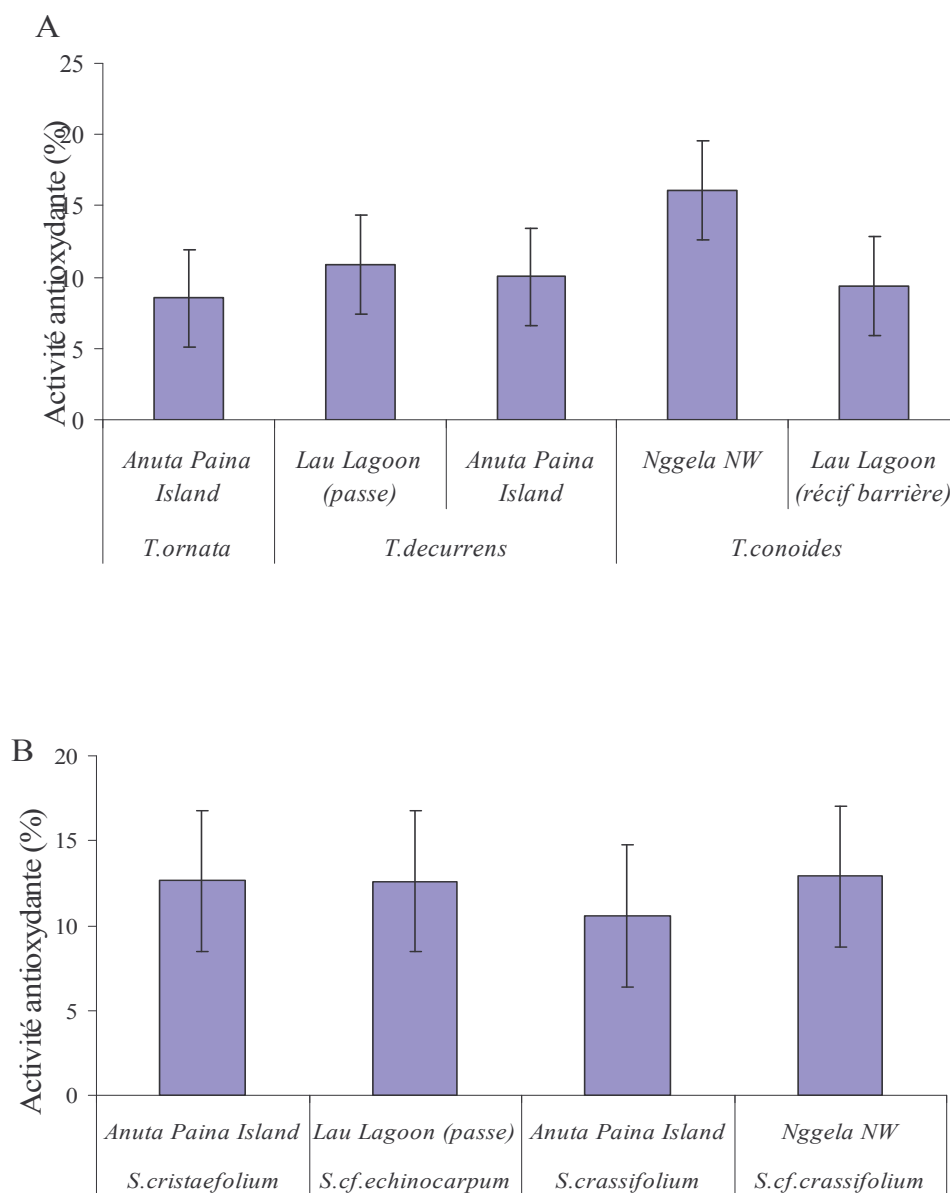
Annexe 4

Protocoles des tests DPPH pour les composés polaires (Figure A) et les composés apolaires (Figure B)



Annexe 5

Activité antioxydante des extraits apolaires (acides gras pour l'essentiel) de différentes espèces de *Turbinaria* (Figure A) et de *Sargassum* (Figure B)



Il n'y a pas de différence significative des activités au sein des espèces de *Turbinaria* ($p = 0,57$) et de *Sargassum* ($p = 0,97$)

Annexe 6

Activités antibactériennes des extraits polaires (Tableau A) et des extraits apolaires (Tableau B) des espèces de Sargassaceae étudiées sur des souches terrestres

A	algues (sp.)		Bactéries Gram -					Bactéries Gram +	
			<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>C. freundii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. faecium</i>	<i>S. aureus</i>
	<i>S. cristaefolium</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. cf. echinocarpum</i>	Lau Lagon (passe)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. cf. oligocystum</i>	Nggela NW	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. crassifolium</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. ornata</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. conoides</i>	Lau Lagon (récif)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. conoides</i>	Nggela NW	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. decurrens</i>	Lau Lagon (passe)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. decurrens</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	MeOH50		-	-	+	-	-	-	-
	Mannitol		-	-	+	-	-	-	-
	Phloroglucinol		-	-	+	-	-	-	-

B	algues (sp.)		Bactéries Gram -					Bactéries Gram +	
			<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>C. freundii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. faecium</i>	<i>S. aureus</i>
	<i>S. cristaefolium</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. cf. echinocarpum</i>	Lau Lagon (passe)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. cf. oligocystum</i>	Nggela NW	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. crassifolium</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. ornata</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. conoides</i>	Lau Lagon (récif)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. conoides</i>	Nggela NW	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. decurrens</i>	Lau Lagon (passe)	-	-	-	-	-	-	-
	<i>T. decurrens</i>	Anuta Paina Island	-	-	-	-	-	-	-
	Chloroforme		-	-	-	-	-	-	-

Le niveau d'activité est noté de la façon suivante :

+ petite activité (zone d'inhibition de 7-8 mm), - pas d'activité. Halo d'inhibition des antibiotiques : diamètre >10mm.

Annexe 7

Activité antibactérienne des composés phénoliques contenus dans les extraits bruts sur des souches marines

algues (sp.)	Concentrations	Souches bactériennes				
		<i>C. marina</i>	<i>V. aestuarianus</i>	<i>P. irgensii</i>	<i>S. putrefaciens</i>	<i>P. elyakovii</i>
<i>S. cristaefolium</i> Anuta Paina Island	C1	-	-	+	-	+
	C2	-	-	+	-	-
	C3	-	-	+	+	+
	C4	-	-	-	+	-
<i>S. cf. echinocarpum</i> Lau Lagoon (passe)	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	+
	C3	-	-	+	-	-
	C4	-	-	-	-	-
<i>S. cf. oligocystum</i> Nggela NW	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	-
	C3	-	-	+	-	-
	C4	-	-	-	-	+
<i>S. crassifolium</i> Anuta Paina Island	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	-
	C3	-	-	-	-	+
	C4	+	+	+	+	-
<i>T. ornata</i> Anuta Paina Island	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	-
	C3	-	-	-	-	-
	C4	+	-	+	-	-
<i>T. conoides</i> Lau Lagoon (récif)	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	-
	C3	-	-	+	-	-
	C4	-	-	-	+	+
<i>T. conoides</i> Nggela NW	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	+
	C3	-	-	+	-	-
	C4	+	+	-	-	-
<i>T. decurrens</i> Lau Lagoon (passe)	C1	+	-	+	-	-
	C2	+	-	+	-	-
	C3	+	-	+	-	-
	C4	+	-	-	-	+
<i>T. decurrens</i> Anuta Paina Island	C1	-	-	+	-	-
	C2	-	-	+	-	+
	C3	-	-	+	-	+
	C4	+	-	-	-	+

Concentration: C1=0,01µg/10µL C2=0,1µg/10µL C3=1µg/10µL C4=10µg/10µL ; toutes les mesures ont été effectuées 6 fois.

+ : inhibition de la croissance du microorganismes, - : pas d'inhibition

Annexe 8

Teneurs moyennes en composés phénoliques d'espèces de *Sargassum* et de *Turbinaria* de différentes régions tropicales et subtropicales

Espèces	composés phénoliques (%MS)	Références Bibliographiques
<i>Sargassum</i> sp.	0,26–1,59 (GBR) 1,59±0,49 (T) 2,05–2,53	Steinberg (1986) Steinberg (1986) Steinberg <i>et al.</i> (1991)
<i>S. cf. echinocarpum</i> J. Agardh	0,09±0,009	cette étude
<i>S. cf. oligocystum</i> Montagne	0,71±0,25	cette étude
<i>S. cinereum</i> J. Agardh	0,69	Kesava Rao et Untawale (1991)
<i>S. crassifolium</i> J. Agardh	0,2±0,03	Cette étude
<i>S. cristaeifolium</i> C.A. Agardh	1,24±0,14 0,075±0,03	Van Alstyne et Paul (1990) cette étude
<i>S. cymosum</i> C. Agardh	0,81±0,02	Fleury <i>et al.</i> (1994)
<i>S. decurrens</i> (R. Brown ex Turner) C. Agardh	2,75±0,44	Steinberg <i>et al.</i> (1991)
<i>S. furcatum</i> Kützing	0,5	Pereira et Yoneshigue-Valentin (1999)
<i>S. hystrix</i> J. Agardh	4,60±1,75 1,43±0,02	Targett <i>et al.</i> (1992) Fleury <i>et al.</i> (1994)
<i>S. ilicifolium</i> (Turner) C. Agardh	1,14–2,13	Joshi et Gowda (1975)
<i>S. linearifolium</i> (Turner) C. Agardh	2,06±0,22	Steinberg <i>et al.</i> (1991)
<i>S. mangarevense</i> (Grunow) Setchell	0,45–0,62 0,69±0,01 (IBR, Punaauia, T) 0,38±0,026 (OBR, Punaauia, T) 0,50±0,027 (Tahara'a, T) 0,96±0,006 (Taravao, T)	Deslandes <i>et al.</i> (non publié) Stiger <i>et al.</i> (2004) Stiger <i>et al.</i> (2004) Stiger <i>et al.</i> (non publié) Stiger <i>et al.</i> (non publié)
<i>S. myriocystum</i> J. Agardh	1,31–1,68	Kesava Rao et Untawale (1991)
<i>S. oligocystum</i> Montagne	2,51±0,17	Steinberg <i>et al.</i> (1991)
<i>S. polyceratium</i> Montagne	3,37±0,45	Targett <i>et al.</i> (1992)
<i>S. polycystum</i> C.A. Agardh	0,84±0,23	Van Alstyne et Paul (1990)
<i>S. vulgare</i> C. Agardh	0,67	Kesava Rao et Untawale (1991)
<i>S. wightii</i> Greville	1,09–1,23	Kesava Rao et Untawale (1991)
<i>Turbinaria decurrens</i> Bory	0,96±0,02 (Lau Lagoon, SI) 0,55±0,01 (AP. Island, SI)	cette étude cette étude
<i>T. conoides</i> (J. Agardh) Kützing	1,57 1,68±0,16 (Lau Lagoon, SI) 1,27±0,08 (Nggela NW, SI)	Kesava Rao et Untawale (1991) cette étude cette étude
<i>T. ornata</i> (Turner) J. Agardh	0,77±0,14 (T) 1,44–1,62 (G) 0,93–0,97 (A) 1,84–2,86 (Punaauia, T) 2,2–2,9 (T, Arue) 1,29±0,012 (FR, Paea, T) 1,12±0,012 (IBR, Punaauia, T) 1,12±0,004 (OBR, Punaauia, T) 1,41±0,025 (Tahara'a, T) 1,58±0,015 (Taravao, T) 1,02 ⁻¹ ,41 (T) 0,26±0,03 (AP. Island, SI)	Steinberg (1986) Van Alstyne et Paul (1990) Steinberg (1986) Zubia (2003) Zubia (2003) Stiger <i>et al.</i> (2004) Stiger <i>et al.</i> (2004) Stiger <i>et al.</i> (2004) Stiger <i>et al.</i> (non publié) Stiger <i>et al.</i> (non publié) Deslandes <i>et al.</i> (non publié) cette étude
<i>T. tricostata</i> E.S. Barton	3,99±1,24	Targett <i>et al.</i> (1992)
<i>T. turbinata</i> (Linnaeus) Kuntze	4,59±0,78	Targett <i>et al.</i> (1992)

FR: fringing reef (récif frangeant); IBR: inner barrier reef (récif barrière intérieur) ; OBR: outer barrier reef (récif barrière extérieur) ; A: Australia; GBR: Great Barrier Reef (Grande Barrière de Corail, Australie) ; G: Guam; T: Tahiti; SI: Solomons Islands (Iles Salomon) ; AP. Island : Anuta Paina Island

Annexe 9

Synthèse de l'étude bibliographique sur les activités antioxydantes et/ou antiradicalaire des genres *Sargassum* et *Turbinaria*

Genre	Espèce	Climat	Références bibliographiques	extraction
<i>Sargassum</i>	<i>S. cinereum</i>	tropical	Kang <i>et al.</i> (2003)	MeOH
	<i>S. coreanum</i>	tempéré	Heo <i>et al.</i> (2005)	méthode enzymatique
	<i>S. confusum</i>	tempéré	Nakai <i>et al.</i> (2006)	EtOH 50%
	<i>S. fullveum</i>	tempéré	Heo <i>et al.</i> (2005)	méthode enzymatique
	<i>S. hemiphyllum</i>	tempéré	Nakai <i>et al.</i> (2006)	EtOH 50%
	<i>S. horneri</i>	tempéré	Fujimoto et Kaneda (1980) Matsukawa <i>et al.</i> (1997) Heo <i>et al.</i> (2005) Nakai <i>et al.</i> (2006)	MeOH 50%, eau EtOH eau méthode enzymatique EtOH 50%
	<i>S. kjellmanianum</i> (= <i>S. muticum</i>)	tempéré	Fujimoto et Kaneda (1980) Yan <i>et al.</i> (1996) Yan <i>et al.</i> (1998) Wei et Yu (2002)	chloroforme, MeOH 50%, eau EtOH 85% chloroforme, AE, acétone, MeOH EtOH
	<i>S. macrocarpum</i>	tempéré	Fujimoto et Kaneda (1980) Matsukawa <i>et al.</i> (1997)	chloroforme, MeOH 50%, eau EtOH , eau
	<i>S. mangarevense</i>	tropical	Zubia (2003)	EtOH 50%
	<i>S. micracanthum</i>	tempéré	Mori <i>et al.</i> (2003) Nakai <i>et al.</i> (2006)	MeOH, MeOH-chloroform (3 :1), AE EtOH 50%
	<i>S. miyabei</i>	tempéré	Kang <i>et al.</i> (2003)	MeOH
	<i>S. patene</i>	tempéré	Nakai <i>et al.</i> (2006)	EtOH 50%
	<i>S. polycystum</i>	tropical	Anggadiredja <i>et al.</i> (1997) Santoso <i>et al.</i> (2004)	méthanol, diethylether, hexane MeOH
	<i>S. ringgoldianum</i>	tempéré	Nakai <i>et al.</i> (2006)	EtOH 50%
	<i>S. siliquastrum</i>	tempéré	Fujimoto et Kaneda (1980) Matsukawa <i>et al.</i> (1997) Lim <i>et al.</i> (2002)	chloroforme, MeOH 50%, eau EtOH, eau MeOH, et DCM, AE, butanol ou eau.
	<i>S. thumbergii</i>	tempéré	Matsukawa <i>et al.</i> (1997) Wei et Yu (2002) Kang <i>et al.</i> (2003) Heo <i>et al.</i> (2005)	EtOH , eau EtOH MeOH méthode enzymatique
<i>S. yezoense</i>	tempéré	Nakai <i>et al.</i> (2006)	EtOH 50%	

Annexe 10

Synthèse de l'étude bibliographique sur les activités antibactériennes des genres *Sargassum* et *Turbinaria* pour quelques genres bactériens classiquement étudiés

		Bactéries	Sargassaceae	références
	Gram positif	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i> (dont, <i>S. crassifolium</i>) <i>Turbinaria elatensis</i> , <i>T. ornata, T. conoides,</i> <i>T. decurrens</i>	Reichelt et Borowitzka* (1984), Sreenivasa Rao <i>et al.</i> (1986)*, (1988)*, Sastry et Rao* (1994), Mahasneh <i>et al.</i> * (1995), Anggadiredja <i>et al.</i> * (1996), Padmakumar et Ayyakkannu * (1997), Hellio <i>et al.</i> (2001), Zubia * (2003), Chotigeat <i>et al.</i> *, 2004.
		<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i> <i>Turbinaria elatensis</i> , <i>T. ornata, T. conoides,</i> <i>T. decurrens</i>	Reichelt et Borowitzka* (1984), Mahasneh <i>et al.</i> * (1995), Padmakumar et Ayyakkannu * (1997), Hellio <i>et al.</i> (2001), Freile-pelegrin et Morales (2004)
Bactéries terrestres		<i>Escherichia coli</i>	<i>Sargassum sp.</i> (dont, <i>S. crassifolium</i> ,) <i>Turbinaria elatensis</i> , <i>T. ornata, T. conoides,</i> <i>T. decurrens</i>	Caccamese et Azzolina (1979), Reichelt et Borowitzka (1984), Sreenivasa Rao <i>et al.</i> * (1988), Sastry et Rao* (1994), Mahasneh <i>et al.</i> *(1995), Anggadiredja <i>et al.</i> * (1996), Padmakumar et Ayyakkannu (1997), Hellio <i>et al.</i> (2001), Zubia (2003), Chotigeat <i>et al.</i> *, 2004.
	Gram négatif	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i> <i>Turbinaria elatensis</i> , <i>T. ornata, T. conoides,</i> <i>T. decurrens</i>	Reichelt et Borowitzka* (1984), Sreenivasa Rao <i>et al.</i> (1986), (1988)*, Sastry et Rao* (1994), Mahasneh <i>et al.</i> * (1995), Padmakumar et Ayyakkannu (1997), Hellio <i>et al.</i> (2001), Zubia (2003)
		<i>Proteus sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i> <i>Turbinaria elatensis</i> , <i>T. ornata, T. conoides,</i> <i>T. decurrens</i>	Reichelt et Borowitzka* (1984), Sreenivasa Rao <i>et al.</i> (1986), (1988)*, Sastry et Rao* (1994), Mahasneh <i>et al.</i> * (1995), Padmakumar et Ayyakkannu * (1997), Hellio <i>et al.</i> (2001)
		<i>Xanthomonas sp.</i>	<i>Sargassum wightii</i> <i>T. conoides</i>	Arun Kumar et Rengasamy* (2000 a, 2000b)
		<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i> <i>Turbinaria elatensis</i> , <i>T. ornata, T. conoides,</i> <i>T. decurrens</i>	Mahasneh <i>et al.</i> * (1995), Padmakumar et Ayyakkannu (1997), Hellio <i>et al.</i> (2001)
Bactéries marines	Gram +	non identifiées	<i>Sargassum muticum</i>	Hellio <i>et al.</i> * (2000, 2001)
	Gram négatif	<i>Vibrio sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i>	Chotigeat <i>et al.</i> , 2004 ; Huang <i>et al.</i> , 2006 ; Yeh <i>et al.</i> , 2006.
		<i>Pseudoalteromonas sp.</i>	<i>Sargassum sp.</i>	Engel <i>et al.</i> , 2006

Annexe11

Tableau récapitulatif des données obtenues lors de cette étude

Les échantillons les plus pluriactifs sont surlignés en rose

n°échantillon	S.852-741		S.848-685		S.850-740		S.842-566		S.850-702		S.852-748		S.848-686		S.852-742		S.852-562																			
genre	<i>Turbinaria</i>																		<i>Sargassum</i>																	
espèces	<i>T.ornata</i>		<i>T.decurrens</i>				<i>T.conoides</i>				<i>S.cristaeifolium</i>		<i>S.cf.echinocarpum</i>		<i>S.crassifolium</i>		<i>S.cf.crassifolium</i>																			
site	Anuta Paina Island		Lau Lagoon (passe)		Anuta Paina Island		Nggela NW		Lau Lagoon (récif barrière)		Anuta Paina Island		Lau Lagoon (passe)		Anuta Paina Island		Nggela NW																			
nature de l'extrait testé (P = polaire, A = apolaire)	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A	P	A																		
teneur moyenne en composés phénoliques (% CPs/gMS)	0,26 ± 0,12	~	0,49 ± 0,12	~	0,96 ± 0,12	~	0,86 ± 0,12	~	1,68 ± 0,12	~	0,075 ± 0,048	~	0,09 ± 0,048	~	0,21 ± 0,048	~	0,71 ± 0,048	~																		
Activité antioxydante (%)	0,13 ± 2,02	8,52 ± 3,46	2,97 ± 2,02	10,92 ± 3,46	10,66 ± 2,02	10,01 ± 3,46	19,71 ± 2,02	16,10 ± 3,46	25,21 ± 2,02	9,39 ± 3,46	non décelée	12,64 ± 4,15	non décelée	12,61 ± 4,15	0,44 ± 0,47	10,56 ± 4,15	6,66 ± 0,47	12,89 ± 4,15																		
Activités antibactériennes	non																																			
	terrestres																																			
marines	oui		oui		oui		oui		oui		oui		oui		oui		oui																			
Activité anticancéreuse	non	non testé	oui	non testé	non	non testé	non	non testé	oui	non testé	oui	non testé	non	non testé	oui	non testé	oui	non testé																		

LE LANN (2006). Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différentes espèces de Sargassaceae des Iles Salomon (Pacifique Sud).

Résumé: Notre étude a porté sur (1) la chimiotaxonomie, (2) l'extraction de composés phénoliques et de composés apolaires et (3) la recherche d'activités antioxydante, antibactérienne et anticancéreuse, effectuée sur des extraits polaires et apolaires de Sargassaceae afin de valoriser la forte biomasse de ces algues aux îles Salomon.

(1) Une nouvelle méthode innovante de distinction des espèces du genre *Turbinaria* a été mise au point. Elle se base sur la composition en acides gras des différentes espèces, déterminée par HRMAS puis confirmée par la RMN des extraits apolaires.

(2) Les teneurs en composés phénoliques des extraits polaires ont également été déterminées. Les Sargassaceae présentent une majorité de composés phénoliques de faibles poids moléculaires (< 5 000 Da). Des variations interspécifiques et spatiales des teneurs chez les deux genres étudiés ont été observées.

(3) L'activité antioxydante des extraits apolaires ne présente aucune variation interspécifique, intergénérique, ni spatiale. Néanmoins, une corrélation significative entre les teneurs en composés phénoliques et l'activité antioxydante a été établie. Au niveau des activités antibactériennes, seules les souches marines présentent une sensibilité aux extraits polaires. L'activité est alors fonction de la souche bactérienne et de l'espèce testée. L'activité anticancéreuse des extraits polaires se révèle significative pour 5 extraits sur 9 et montre une variabilité interspécifique et spatiale.

Ainsi, les Sargassaceae possèdent un potentiel de substances chimiques actives qu'il reste à exploiter. La méthode chimiotaxonomique mise au point lors de cette étude semble prometteuse et fiable. Une caractérisation des acides gras mis en cause dans la chimiotaxonomie est en cours de réalisation.

Mots-clefs: activités biologiques, HRMAS, phlorotannins, *Sargassum*, *Turbinaria*

LE LANN (2006). Chemotaxonomic knowledge of the genus *Turbinaria* and chemical defence in Sargassaceae species from the Solomon Islands (South Pacific).

Abstract: Our study concerned (1) the chemotaxonomy, (2) the extraction of phenolic and apolar compounds and (3) the research of active antioxidant, antibacterial and antitumoral compounds within some Sargassaceae species from the Solomon Islands in the aim to valorize their high biomass.

(1) A novel method of discrimination of *Turbinaria* species was created. It was based on the analysis of the specific composition of fatty acids, which was first determined by HRMAS and afterwards confirmed with the NMR of the non-polar extracts.

(2) The phenolic content of the polar extracts was also determined. The Sargassaceae produced a majority of low molecular weight phenolic compounds (< 5 000 Da). Interspecific and spatial variations of phenolic content were observed in the two genera.

(3) The antioxidative activity of the non-polar extracts showed neither interspecific, nor intergeneric and nor spatial variations. Nevertheless, significant correlation between the phenolic content and the antioxidative activity was highlighted. For the antibacterial activities, only marine bacteria were sensitive to polar extracts, showing that the activity depends on the bacteria and the algal species. The antitumoral activity of the polar extract was significant for 5 extracts to the 9 tested, and showed interspecific and spatial variations. Thus, the Sargassaceae represent a potential of active chemical molecules which could be explored. The chemotaxonomic method developed seems promising and efficient. A characterization of the fatty acids implicated in the chemotaxonomy is in progress.

Keywords: biological activities, HRMAS, phlorotannins, *Turbinaria*, *Sargassum*