



THÈSE EN COTUTELLE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE DIPLÔME DE

**DOCTORAT NATIONAL D'UNIVERSITÉ ABDELMALEK
ESSAÂDI-TÉTOUAN (MAROC)**

Centre d'Études Doctorales en Sciences et Technologies de Tétouan

ET

**DOCTORAT D'UNIVERSITÉ DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA (ESPAGNE)**

Programme de Doctorat en Recherche et Développement des Médicaments

Spécialité: **Phycologie-Pharmacologie**

**Diversité algale du Parc National d'Al-Hoceima et étude
pharmaco-chimique de l'algue brune *Carpodesmia
tamariscifolia* (Hudson) Orellana & Sansón
(*Cystoseira tamariscifolia*)**

Par : MOUSSA Hanaa

Soutenue le 14 Décembre 2019 devant le jury:

Pr. ERRAMI Mohammed	Université Abdelmalek Essaâdi, Fs Tétouan	Président
Pr. EL LARGHDACH Anas	Université Abdelmalek Essaâdi, Fs Tétouan	Rapporteur
Pr. DOUIRA Allal	Université Ibn Tofail, Knitra	Rapporteur
Pr. BOUZIANE Hassan	Université Abdelmalek Essaâdi, Fs Tétouan	Rapporteur
Pr. VIÑA CASTELAO Dolores	Université Santiago de Compostela, Espagne	Examinatrice
Pr. GIL LONGO Jose	Université Santiago de Compostela, Espagne	Directeur
Pr. QUEZADA GONZALEZ Elías	Université Santiago de Compostela, Espagne	Directeur
Pr. KAZZAZ Mohamed	Université Abdelmalek Essaâdi, Fs Tétouan	Directeur



À l'âme de mon cher encadrant Pr. Hassane Riadi,

*« La reconnaissance est la plus belle fleur qui
jaillit de l'âme »*

Henry Ward Beecher



De quelle reconnaissance je vais parler exactement dans ce manuscrit ?

Ni le tri des mots pourra l'égaliser, ni l'expression sera apte de récompenser la hauteur de ce que vous m'avez donné. On a planifié vigilement pour ce véritable jour, j'étais toujours hâte pour qu'il soit proche et couronné et pour qu'on puisse récolter en fin ses fruits.

Le jour prévu pour nous arrive finalement mais la question que je me pose : quelle peine que vous ne soyez pas avec nous cet instant ?

(...) Je suis totalement inapte de trancher comment je peux le considérer; un jour complet à travers la réalisation intégrale de ce travail ou incomplet par l'absence de votre présence. La seule amère vérité qu'on peut confirmer le présent jour que le poids de fatalité et le choix de destin sont assez forts que nous. C'est le même jour où j'ai bien appris et concrétisé que les plus grandes leçons et sagesses ne sont pas tirés ni inspirés d'un livre mais d'un enseignant tel que vous. Avant d'être mon encadrant vous étiez toujours le père et l'ombre qui m'a consolé lorsque j'avais de la peine. L'enseignant qui m'a formé, encadré et m'a appris comment je mis le pied à l'étrier de la recherche et d'avancer correctement à l'aide de ses orientations infinies, ses suggestions pertinentes, ses précieux conseils, son écoute, sa disponibilité et sa diligence inconditionnelle. Fière énormément que vous ayez été le pilier et la clef de ce travail.

A l'heure actuelle, je combats pour être comme vous me voudrez et je milite des milliers de fois pour bien incarner vos petites et grandes attentes et j'aimerais bien que vous sachiez comment vous êtes présent même si vous êtes invisible et impalpable, votre âme existe là où on est.

Je viens d'admettre également que la vie a une fin comme une flamme de bougie s'éteint, mais dans le cœur les souvenirs sont à jamais ancrés.

J'espère grandement que vous soyez fière et satisfait de moi et je prie à dieu de me donner la patience, la bravoure et la détermination pour avancer et renforcer mes pas dans le domaine "psychologie", ce domaine qui m'a passionné depuis que vous avez implanté profondément son amour dans mon cœur.

Puisse ton âme reposer en paix.

Dédicaces

À mes très chers parents,

*Cette thèse représente l'aboutissement du soutien et des encouragements que mes parents m'ont prodigués tout au long de cette période. **Merci** pour l'irremplaçable et l'inconditionnel soutien dans les moments de découragement. **Merci** pour les efforts considérables et les prières qui m'ont été d'une grande aide pour mener à terme ce travail. Puisse dieu le tout puissant vous procurer santé, bonheur, et longue vie.*

Je vous aime de tout mon cœur...

À mon chéri,

La patience et l'encouragement de mon cher mari m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés rencontrées au cours de cette thèse. Aucun mot ne saurait exprimer à sa juste valeur tout l'amour, le respect, l'attachement et la reconnaissance que je te porte.

Que dieu nous réunisse pour un long, commun, serein et heureux chemin.

*Je t'aime..... **Merci***

À mes chers sœurs et frères,

À mes adorables neveux et nièces

À mes beaux-parents,

À ma belle-famille,

À mes professeurs,

À mes amis,

Je leur dédie ce travail qui n'aurait pu aboutir sans leur soutien.

***Merci** d'avoir cru en moi.*

Remerciements

Diversité des algues, diversité des fractions d'algue, diversité des disciplines, diversité des laboratoires, diversité des apprentissages... Cette thèse s'achève et ce document commence par les indispensables remerciements pour tous ceux qui m'ont accompagné et m'ont apporté leur aide et leurs conseils.

Je tiens à adresser des remerciements très spéciaux à mes quatre directeurs de thèse ! Eh oui, j'en ai quatre ! La chance quoi ! Comment est-il possible de concentrer en si peu d'adjectifs ce que représente les années que vous m'avez consacré de votre temps !

Pr. Hassane Riadi, je me souviens très bien de notre premier entretien pour décrocher mon stage de licence en 2010. Vous faisiez partie de mes professeurs. Nous sentions votre flamme à vouloir nous apprendre et à partager avec nous votre savoir-faire. Durant ces années de thèse, vous étiez toujours présent, soucieux pour que le travail se passe dans les conditions les plus favorables possibles. Vous m'encouragez et vous avez cru en moi. Je ne trouve pas de mots pour vous exprimer toute ma reconnaissance et ma gratitude. Grâce à vous, j'ai vu d'autres horizons et côtoyé d'autres personnes. Vous m'avez prouvé que tout est possible, il suffit d'être à la hauteur et de bien travailler. Puisse ton âme reposer en paix.

Je souhaiterais exprimer toute ma reconnaissance à mon directeur de thèse **Pr. Jose Gil longo**, qu'il trouve dans ce travail l'assurance de mon profond respect et le témoignage de mon sincère remerciement de m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche à la faculté de pharmacie (USC). Pour avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail. Ses qualités humaines, ses directives, ses encouragements incessants, l'effort (le temps et l'énergie) qu'il m'a consacré et ses conseils judicieux m'ont été d'un grand intérêt. Je souhaite que ce travail soit finalement à la hauteur de vos espérances.

Mes sincères remerciements à mon directeur de thèse **Dr. Elías Quezada Gonzalez**, pour l'encadrement scientifique, pour son soutien, et pour l'ensemble de la logistique qu'elle a mis à ma disposition pour la réalisation de la partie chimique de ce travail. Son énergie, sa bonne humeur contagieuse ont été des éléments moteurs pour moi. J'ai pris un grand plaisir à travailler avec lui, qu'il trouve ici l'expression de ma sincère et respectueuse gratitude.

Comment ne pas remercier le **Pr. Mohamed Kazzaz** ? Qui n'a eu de cesse de me soutenir et encourager durant cette période critique. Je lui suis aussi reconnaissante pour son amabilité et pour tout l'intérêt et le temps qu'il m'a consacré au cours de ces derniers mois pour terminer les corrections afin de finaliser ce document de thèse. Je le remercie pour son encadrement pendant cette période, son suivi, les idées scientifiques et les précieux conseils apportés pour mettre à terme ce travail. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance.

Honorée de leur présence, je souhaite remercier vivement les membres de mon jury de thèse pour leur disponibilité, et d'évaluer d'avoir accepté et de juger ce travail:

Je témoigne ma gratitude au **Pr. Mohammed Errami**, Président de l'Université Abdelmalek Essaâdi, pour le grand honneur qu'il me fait en acceptant de présider mon jury de thèse, malgré ses nombreuses occupations administratives. Sa présence dans ce jury m'honore, qu'il veuille trouver dans ces quelques mots le témoignage de mon respect le plus profond.

Je tiens à exprimer mes remerciements à **Dr. Dolores Viña Castelao** professeur au département de pharmacologie de l'Université de Santiago de Compostelle, pour son aide et gentillesse, sa disponibilité de bien avoir accepté de participer à l'évaluation de ce travail, sans oublier le temps qu'elle m'a consacré pour faciliter mes recherches au sein de CiMUS.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance au **Pr. Allal Douira** de la faculté des sciences de Kénitra d'avoir accepté le lourd fardeau de rapporter et de juger ce travail. Je tiens à lui exprimer ici ma plus haute considération.

Je tiens à remercier tout particulièrement **Pr. Anas El Laghdach** de la Faculté des Sciences de Tétouan, qui a eu l'amabilité d'accepter être rapporteur de ma thèse et de participer à ce jury. J'en suis honoré et profondément reconnaissant.

Je remercie vivement le **Pr. Hassan Bouziane** du laboratoire Phycologie-Mycologie Appliquées, d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteur. Qu'il soit aussi très sincèrement remercié pour les encouragements qu'il m'a souvent prodigué et pour tous ses conseils toujours pertinents et attentifs.

Tous mes remerciements s'adressent à ceux dont les contacts et les discussions m'ont éclairé, ceux qui n'ont pas hésité à m'apporter une aide précieuse dans mes travaux, mes chers professeurs de groupe de recherche Phycologie-Mycologie Appliquées (PMA), en particulier, le **Pr. Mohamed Kadiri**. Merci pour votre sympathie, votre aide, vos conseils, vos suivis et les passionnantes discussions.

Mes sincères remerciements vont également à tous les enseignants du département de Biologie de la Faculté des Sciences de Tétouan, plus particulièrement à mes chères professeures Mesdames **Majida El Alami, Soumia Fahd, Nard Bennas, Meftaha Senhaji et Kawtar Kettani** pour leurs conseils et les discussions scientifiques et moins scientifiques que l'on a pu avoir...

Vivement, je souhaite remercier les personnes avec qui j'ai collaboré, pour leur expertise, leur rigueur scientifique, et leur aide expérimentale et morale, **Dr. Hanaa Zbakh** et **Dr. Mustapha Hassoun**. Grace à vos aides mes difficultés ont été surmontées.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux et celles qui m'ont aidé et encourager, de près ou loin, lors de la réalisation de ce travail, ainsi que toutes personnes intéressées par mon travail, en espérant qu'ils puissent trouver dans cette thèse des données utiles.

Merci encore à tout pour tout...

AVANT PROPOS

Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'une convention de Co-tutelle entre l'Université Abdelmalek Essaâdi (Tétouan-Maroc), et l'Université de Santiago de Compostela (Santiago de compostela-Espagne). Les travaux menés au cours de cette thèse ont été réalisés en partie au sein de l'équipe "Pharmacologie des Maladies Chroniques", dirigé par le professeur Jose Gil Longo et le professeur Elías Quezada Gonzalez (USC), et en partie au sein de l'équipe "Phycologie Mycologie Appliquées" dirigé par le professeur Hassane Riadi et le professeur Mohamed Kazzaz (UAE). Ces travaux de thèse ont été réalisés grâce au soutien fourni par le programme "EU-METALIC II Scholarship" géré par l'université de Cardiff (Cardiff-UK).

Lieux De Réalisation Des Travaux

- ↳ Laboratoire de Botanique Appliquée, Faculté des Sciences de Tétouan, Université Abdelmalek Essaâdi (Maroc).
- ↳ Laboratoire de Pharmacognosie, Département de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, Université de Santiago de Compostela (Espagne).
- ↳ Laboratoire de chimie des produits naturels, Département de Chimie Organique, Faculté de Pharmacie, Université de Santiago de Compostela (Espagne).
- ↳ Centre de recherche en médecine moléculaire et maladies chroniques (CiMUS), Université de Santiago de Compostela (Espagne).
- ↳ Centre de recherche EMPRENDIA, Université de Santiago de Compostela (Espagne).

Organisation Du Manuscrit

Ce manuscrit de thèse comprend six chapitres, le premier présente une revue bibliographique des principaux sujets de la thèse, le chapitre 2 correspond à une présentation générale de l'aire d'étude, les chapitres 3, 4 et 5 concernent les études réalisées au cours de ces années de recherche. Ces trois chapitres ont été conçus sur la base des articles publiés ou soumis incluant les objectifs de l'étude, la méthodologie, les résultats obtenus, la discussion et la conclusion. Le dernier chapitre synthétise les conclusions générales et les perspectives futures de cette recherche.

Productions Scientifiques

Publications

- 1) **Moussa, H.**, Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H. & Riadi, H. (2018). Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area). *Acta Bot. Malacit.* 43: 91-109. DOI: [10.24310/abm.v43i0.4966](https://doi.org/10.24310/abm.v43i0.4966).
- 2) **Moussa, H.**, Wynne, M. J., Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H., Kazzaz, M. & Riadi, H. (2015). On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco). *Bot. Mar.* 58(6):499-509. DOI: [10.1515/bot-2015-0048](https://doi.org/10.1515/bot-2015-0048).
- 3) **Moussa, H.**, Quezada, E., Viña, D., Riadi, H., Gil-Longo. (2019). Redox-active phenolic compounds mediate the antioxidant and cytotoxic effects of *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*), *European Journal of Integrative Medicine* (Submitted).
- 4) Salhi, G., Hassoun, M., **Moussa, H.**, Zbakh, H., Kazzaz, M. & Riadi, H. (2019). First record of the red alga *Tiffaniella gorgonea*: an introduced species in the Mediterranean Sea. *Bot. Mar.*, 62(2): 161-165. DOI: [10.1515/bot-2017-0129](https://doi.org/10.1515/bot-2017-0129).
- 5) Hassoun, M., Wynne, M. J., **Moussa, H.**, Salhi, G., Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2018). An investigation of members of the tribe Ceramieae (Ceramiaceae, Rhodophyta) occurring on both the Mediterranean and Atlantic shores of Morocco. *Algae*, 33(3): 243-267.
DOI: [10.4490/algae.2018.33.8.29](https://doi.org/10.4490/algae.2018.33.8.29).
- 6) Hassoun, M., **Moussa, H.**, Salhi, G., Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzaz M. (2018). New records of benthic marine algae from Morocco. *Acta Bot. Malacit*, 43: 1-6.
Doi: [10.24310/abm.v43i0.3265](https://doi.org/10.24310/abm.v43i0.3265).
- 7) Salhi, G., Zbakh, H., **Moussa, H.**, Hassoun, M., Bochkov, V., Ciudad, C. J., Noé, V. & Riadi, H. (2018). Antitumoral and anti-inflammatory activities of the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. *Europ. J of Integ. Med.*, 18: 66-74.
DOI: [10.1016/j.eujim.2018.02.001](https://doi.org/10.1016/j.eujim.2018.02.001).

- 8) Hassoun, M., Salhi, G., Kazzaz, M., Riadi, H. & **Moussa, H.** (2016). New records of *Polysiphonia* sensu lato from the Atlantic Ocean in Morocco. *Mar. Biodivers.* 46(2): 443– 449. DOI: [10.1007/s12526-015-0387-8](https://doi.org/10.1007/s12526-015-0387-8).
- 9) Hassoun, M., Salhi, G., **Moussa, H.**, Riadi, H., Kazzaz, M. & Zbakh H. (2016). *Ceramium cornutum* and *Ceramium pallidum* (Rhodophyta: Ceramiales) two new records for Morocco: morphology and reproductive structures. *Bot. Lett.* 163(1): 25-31. DOI: [10.1080/12538078.2016.1142894](https://doi.org/10.1080/12538078.2016.1142894).
- 10) Hassoun, M., **Moussa, H.**, Kazzaz, M., Riadi, H. & Salhi, G. (2015). First record of *Polyneura bonnemaisonii* (Delesseriaceae, Rhodophyta) from the Atlantic Ocean of Africa. *Mar. Biodivers. Rec.*, 8: e139. DOI: [10.1017/S1755267215001190](https://doi.org/10.1017/S1755267215001190).
- 11) Hassoun, M., Salhi, G., Bouksir, H., **Moussa, H.**, Riadi, H. & Kazzaz, M. (2014). *Codium tomentosum* var. *mucronatum* et son epiphyte *Aglaothamnion pseudobyssoides*, deux nouvelles espèces d'algues benthiques pour la phycoflore du Maroc. *Acta Bot. Malacit.* 39: 37–44.
- 12) Zbakh, H., Salhi, G., **Moussa, H.** & Riadi, H. (2014). Cytotoxic and antioxidant activities of the red seaweed *Halopithys incurva*. *Internat. J. Advanc. Pharma. Biol. Chem.*, 3(4): 1043-1047.
- 13) Riadi, H., Salhi, G., Bouksir, H., **Moussa, H.** & Hassoun, M. (2013). *Acrosymphyton purpuriferum* (J. Agardh) Sjöstedt et *Balliella cladoderma* (Zanardini) Athanasiadis, deux nouvelles espèces d'algues benthiques de la Méditerranée Marocaine. *Bull .Inst. Sci. Vie* Rabat 35: 9–14.

Communications Scientifiques

- 1) **Moussa, H.**, Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H. & Riadi, H. (2018). First Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area). La Première Conférence maroco-espagnole de la Réserve de Biosphère Intercontinentale de la Méditerranée (RBIM). 24 juin. Chefchaouen-Maroc (Communication affichée).
- 2) **Moussa, H.** & Riadi, H. (2016). Flore Algale Marine de Parc National d'Al-Hoceima. 2ème édition du Congrès International sur les Substances Naturelles et Développement Durable, Biodiversité: un enjeu pour la COP22. Université Mohamed V, Faculté des sciences de Rabat. 19-21 Mai. Rabat-Maroc (Communication orale).

- 3) Salhi, G., Noe, V., Zbakh, H., **Moussa, H.**, Hassoun, M. & H. Riadi (2016). L'activité antiproliférative de l'algue marine *Sphaerococcus coronopifolius*. 2ème édition du Congrès International sur les Substances Naturelles et Développement Durable, Biodiversité: un enjeu pour la COP22. Université Mohamed V, Faculté des sciences de Rabat. 19-21 Mai. Rabat-Maroc (Communication orale).
- 4) Hassoun, M., Salhi, G., **Moussa, H.**, Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2015). Marine algal flora of Moroccan Atlantic coast (diversity, ecology and biogeography). International Symposium on the development of entrepreneurship at universities: Innovation in favour of regional development (CIEU2015). 23-25 novembre. Tétouan-Maroc (Communication affichée).
- 5) Hassoun, M., Salhi, G., **Moussa, H.**, Riadi, H. & Kazzaz, M. (2014). Contribution à l'étude de la phycoflore benthique d'un secteur de l'Atlantique marocaine : cas de la région de Hyayda (Larache). 16ème édition de Journée de Recherche, Université Abdelmalek Essâadi. 19-20 décembre. Tétouan-Maroc. (Communication affichée).
- 6) Hassoun, M., **Moussa, H.**, Salhi, G. & Kazzaz, M. (2014). Étude de la phycoflore benthique de la côte Atlantique Marocaine. 1er workshop National de Biodiversité, Faculté des Science et Techniques. 17 décembre. Fès-Maroc (Communication orale).

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	Acides arachidoniques
AGPI	Acides gras polyinsaturés
ASPIM	Aire spécialement protégée d'importance méditerranéenne
BHA	Hydroxyanisole butylé
BHT	Butylated hydroxytoluene
BHT	Hydroxytoluène butylé
Caco-2	Human epithelial colorectal adenocarcinoma cells
CtDn	Dichloromethane fractions
CtDn	Methanol fractions
CtH	Hexane fraction
Daudi	Human Burkitt's lymphoma
DMSO	Dimethyl sulphoxide
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
EC₅₀	Half maximal effective concentration
ED₅₀	Effective dose for 50% of the population
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EMEM	Eagle's Minimum Essential Medium
EPA	Eicosapentaénoïque
FBS	Fetal bovine serum
G. PMA	Groupe Phycologie Mycologie Appliquée
GAE	Gallic acid equivalents
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HeLa	Human cervical cancer cell line
HepG2	Human liver cancer cell line
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HuH-7	Human Hepatocarcinoma cell line
IC₅₀	50% inhibitory concentration
ICBN	Code international de nomenclature botanique
Jurkat	Immortalized line of human T lymphocyte cell line
K562	Human immortalised myelogenous leukemia cell line
MCF-7	Human adenocarcinoma cell line
MPAs	Mediterranean Marine Protected Areas
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NEAA	Non-essential amino acids
NO	Oxyde nitrique
PBS	Phosphate buffered saline
PG	Gallate de propyle
PNAH	Parc National d'Al-Hoceima
PNs	Produits naturels
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
S17	Clonal stromal cell line
SEM	Standard error of mean
SH-SY5Y	Human neuroblastoma cell line
T47D	Human breast cancer cell line
TBHQ	Tert-butylhydroquinone
TLC	Thin layer chromatography
TPC	Total phenolic content
UNEP	Programme des Nations Unies pour l'environnement
Vero	African green monkey kidney normal cell line

LISTE DES FIGURES

Chapitre 1. Introduction générale

Figure 1.1. Espèces de microalgues de la côte méditerranéenne du Maroc. (A) <i>Dinophysis caudata</i> ; (B) <i>Ceratium arietinum</i> ; (C) Exemple d'euglénophycées du genre <i>Eutreptia</i>	1
Figure 1.2. Espèces de macroalgues à marée basse sur la côte méditerranéenne du Maroc	2
Figure 1.3. (A) Algue calcaire <i>Tenarea tortuosa</i> ; (B) Algue non calcaire <i>Rissoella Verruculosa</i>	2
Figure 1.4. (A) Algues épilithiques: <i>Ceramium</i> sp. (B) Algues épipéliques.....	4
Figure 1.5. (A) Algue épizoïque: <i>Pachymeniopsis lanceolata</i> sur un bivalve; (B) Algue épiphyte: <i>Ceramium diaphanum</i> sur <i>Cladophora</i> sp.	4
Figure 1.6. Algue endophyte: <i>Schmitziella enodophloea</i> dans <i>Lychaete pellucida</i>	4
Figure 1.7. Algues vertes. (A) <i>Ulva</i> sp.; (B) <i>Codium tomentosum</i> ; (C) <i>Codium adhaerens</i> ; (D) <i>Ulva intestinalis</i>	7
Figure 1.8. Algues rouges. (A) <i>Asparagopsis armata</i> ; (B) <i>Ellisolandia elongata</i> ; (C) <i>Lomentaria articulata</i> ; (D) <i>Sphaerococcus coronopifolius</i> ; (E) <i>Botryocladia botryoides</i>	8
Figure 1.9. (A) Aspect générale de <i>Laurencia tenera</i> ; (B) Synapses secondaires.	9
Figure 1.10. (A) Aspect générale de <i>Antithamnionella boergesenii</i> ; (B) Cellules sécrétrices..	9
Figure 1.11. Algues brunes. (A) <i>Bifurcaria bifurcata</i> ; (B) <i>Colpomenia sinuosa</i> ; (C) <i>Carpodesmia tamariscifolia</i> ; (D) <i>Dictyota dichotoma</i>	10
Figure 1.12. Organisation générale d'un thalle de <i>Carpodesmia tamariscifolia</i> . (A) Disque basal; (B) Axe primaire épais; (C) Axe secondaire; (D) Axe tertiaire.....	11
Figure 1.13. Irisation bleue sous l'eau chez l'algue brune <i>Carpodesmia tamariscifolia</i>	12
Figure 1.14. <i>Carpodesmia tamariscifolia</i> du Parc National d'Al-Hoceima.....	13
Figure 1.15. <i>Carpodesmia tamariscifolia</i> dans l'infralittoral supérieur.....	14
Figure 1.16. Les activités biologiques de macromolécules issues des algues marines.	17
Figure 1.17. Les activités Biologiques des algues marines au cours des dix dernières années.	20
Figure 1.18. Les plus importants facteurs (endogènes et exogènes) qui favorisent la production des radicaux libre (ROS), menant à l'apparition de stress oxydatif.....	21
Figure 1.19. Les lésions cellulaires et tissulaires produites par le stress oxydatif sont responsables de plusieurs maladies	22
Figure 1.20. Représentation schématique des différentes étapes de la cancérogenèse	25
Figure 1.21. Nombre de publications sur les algues marines du Maroc	39

Figure 1.22. Nombre d'espèces d'algues répertoriées au Maroc par rapport aux pays voisins.....	39
---	----

Chapitre 2- Description de l'aire d'étude: Parc National d'Al-Hoceima (PNAH)

Figure 2.1. Répartition des 35 ASPIM sur la mer Méditerranée.....	64
Figure 2.2. Carte de localisation géographique du Parc National d'Al-Hoceima.....	66
Figure 2.3. Les trois types géomorphologiques de la façade maritime de PNAH (A) Les falaises homogènes; (B) Les falaises hétérogènes; (C) Plage de Badis et (D) Plage de Izdhy).....	68
Figure 2.4. Circulation générale de surface dans la mer Méditerranée.....	69
Figure 2.5. Répartition géographique des sites d'échantillonnage le long du parc national d'Al Hoceima: 1- Cala Iris, 2- Torres, 3- Badis, 4- Topo, 5- Boumehdi, 6- Tala Youssef, 7- Rmod.....	73
Figure 2.6. (A) vue panoramique de site Cala Iris; (B) la zone échantillonnée du site.....	74
Figure 2.7. (A) Site de Torres; (B) Formations caractérisant le littoral de Torres.....	74
Figure 2.8. (A) zone Este de Badis et (B) Zone ouest de site.....	75
Figure 2.9. Site de Topo situé dans la zone centrale du Parc.....	75
Figure 2.10. Site de Boumehdi avec éboulis et blocs de roches.....	76
Figure 2.11. (A) Site de Tala Youssef; (B) Plages à graviers ;(C) et (D) Roches et trottoirs caractérisant le site.....	76
Figure 2.12. (A) Vue générale de site de Rmod; (B), (C) et (D) Trottoirs à vermetes.....	77

Chapitre 3. Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area)

Figure 3.1. Geographical distribution of the Sampling sites along the Al-Hoceima National Park, northeast of Morocco "Mediterranean Sea".....	84
Figure 3.2. Sampling and identification of Seaweeds.....	85
Figure 3.3. Comparison of total species from each sites studied.....	108
Figure 3.4. Detailed comparison of the PNAH seaweed flora: our study and previous works.....	109
Figure 3.5. Numbers of species of seaweeds listed in the Mediterranean coast of Morocco and Al-Hoceima National Park.....	109

Chapitre 4. On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco)

Figure 4.1. Geographical location of the collection sites in the Al-Hoceima National Park, northeast of Morocco 'Mediterranean Sea': 1- Cala Iris, 2- Torres, 3- Tala Youssef, 4- Rmod.....	118
--	-----

Figures 4. 2–11. *Polysiphonia havanensis*. (2) Habit. Scale bar, 0.5 cm. (3) Adventitious branch. Scale bar, 50 μm . (4) Rhizoids in open connection with the pericentral cell. Scale bar, 100 μm (5) Prostrate axis. Scale bar, 200 μm . (6) Transverse section through prostrate axis with four pericentral cells. Scale bar, 100 μm . (7) Apical part of main axis showing a lateral branch developing in the axil of a trichoblast (arrow). Scale bar, 100 μm . (8) Reproductive branches with spiral series of tetrasporangia. Scale bar, 100 μm . (9) Cystocarps on upper part of an erect axis. Scale bar, 200 μm . (10) Main axis bearing a cystocarp on a short stalk, which is releasing a carpospore (arrow). Scale bar, 100 μm (11) Branch apex with spermatangial branchlets. Scale bar, 100 μm 120

Figures 4. 12–17. *Diplothamnion jolyi*. (12) Habit of the thallus (13) Whorled branching and opposite decussate arrangement of lateral branches; (14) Prostrate axis with unicellular rhizoids; (15) Detail of apical cells with tapered end; (16) Detail of a diminutive end cell; (17) Detail of terminal cells of the whorl-branchlets, showing some swollen apical cells (arrow). Scale bars, 100 μm 123

Figures 4. 18–24. *Champia compressa*. (18) Habit. Scale bar, 3 mm. (19) Detail of main axis, showing constricted diaphragms and a constricted branch at the base. Scale bar, 0.5 mm. (20–21) Longitudinal section showing diaphragm with 8 cells across from dorsal to ventral surfaces. Scale bars, 200 μm . (22) Longitudinal section showing spherical gland cells (arrows) and elongate medullary filament cells. Scale bar, 50 μm . (23) Longitudinal section showing tetrasporangia (arrows). Scale bar, 100 μm . (24) Cystocarp. Scale bar, 250 μm 126

Chapitre 5. Redox-active phenolic compounds mediate the antioxidant and cytotoxic effects of *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*).

Figure 5.1. Total phenolic content expressed in % GAE (g of gallic acid equivalents per 100 g of dry sample) in the different fractions of *C. tamariscifolia*. Each bar represents the mean \pm s.e.m (indicated by vertical lines) of at least 3 experiments. 143

Figure 5.2. DPPH radical scavenging effect of (a) *C. tamariscifolia* apolar fractions (10 and 100 $\mu\text{g/mL}$) and (b) *C. tamariscifolia* polar fractions (10 and 100 $\mu\text{g/mL}$), phloroglucinol (10 and 100 $\mu\text{g/mL}$) and hydroquinone (1.1 and 55 $\mu\text{g/mL}$). Each bar represents the mean \pm s.e.m (indicated by vertical lines) of at least two independent experiments. 144

Figure 5.3. Effect of different % vehicle (DMSO), cisplatin (6 $\mu\text{g/mL}$), hydroquinone (5.5 $\mu\text{g/mL}$) or *C. tamariscifolia* fractions (50 $\mu\text{g/mL}$) on cell death. Cell mortality was determined by the MTT assay and the data were normalized as % of untreated cells. Each bar represents the mean \pm s.e.m (indicated by vertical lines) of at least five independent experiments. $^{\#}P < 0.05$ compared to the untreated group, $*P < 0.05$ compared to the corresponding vehicle treated (DMSO) control group. 145

Figure 5.4. H₂O₂ concentration after 1h of autoxidation in different representative autoxidized aqueous solution fractions of *C. tamariscifolia* (CtH, CtD2, CtD3.5 and CtM2; 100 µg/mL), phloroglucinol (12.6 µg/mL) and hydroquinone (1.1 µg/mL). Each bar represents the mean ± s.e.m (indicated by vertical lines) of at least three independent experiments. 146



LISTE DES TABLEAUX

Chapitre 1. Introduction générale

Tableau 1.1. Caractéristiques générales des cellules de différents groupes de macroalgues.... 3

Tableau 1.2. Suffixes utilisés pour désigner les groupes régis par le code de la nomenclature botanique (ICBN), selon le rang des algues..... 5

Tableau 1.3. Quelques métabolites secondaires des différentes espèces de *Sargassaceae* ... 29

Chapitre 2. Description de l'aire d'étude: Parc National d'Al-Hoceima (PNAH)

Tableau 2.1. Habitats sensibles de Méditerranée observés dans le PNAH. Abondance relative des habitats: Commun (C), Non-Commun (NC) ou Occasionnel (O). 71

Tableau 2.2. Espèces d'intérêt pour la conservation en Méditerranée observées dans le PNAH 72

Chapitre 3. Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area)

Tableau 3.1. Accepted seaweed taxa hitherto reported in the Al-Hoceima National Park according to their sampling site. 86

Tableau 3.2. Number of seaweeds taxa according to different taxonomic groups (Class, order, family, genus and species). 105

Tableau 3.3. Number of classes, orders, families, genera and species of Rhodophyta reported from Al-Hoceima National Park. 106

Tableau 3.4. Number of class, orders, families, genera and species of Ochrophyta (Class Phaeophyceae) reported from Al-Hoceima National Park. 107

Tableau 3.5. Number of class, orders, families, genera and species of Chlorophyta (Class Ulvophyceae) reported from Al-Hoceima National Park. 108

Chapitre 4. On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco).

Tableau 4. 1. Comparison of taxa of *Diplothamnion*. 124

Chapitre 5. Redox-active phenolic compounds mediate the antioxidant and cytotoxic effects of *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*).

Tableau 5.1. Percentage of of crude extracts yield and fractions of *C. tamariscifolia* with respect to the initial dry alga weight (50 g). CtH, hexane extract; CtDn, dichloromethane fractions; CtMn, methanol fractions. 142

Tableau 5.2. Phenols previously reported to be present in *C. tamariscifolia* that were tentatively identified (themselves and/or some isomers of them) in the five representative fractions of the alga (CtH, CtD2, CtD3.5, CtM1 and CtM2) analysed..... 147

Résumé

La mer Méditerranée est un point chaud de la biodiversité marine classé parmi les plus connus au monde. Elle est, par conséquent, considérée un milieu approprié pour étudier les écosystèmes marins. Néanmoins, la diversité et la bio-potentialité pharmacologique des algues marines du bassin méditerranéen sont encore loin d'être complètement connue, en particulier dans les aires marines protégées de la Méditerranée, y compris le Parc National d'Al-Hoceima du Maroc (PNAH).

La présente thèse, contribue à la réalisation de la première checklist des algues marines du PNAH, basée principalement sur nos propres collections originales et complétée par les références antérieures. En se basant sur la taxonomie actuelle, le nombre total de taxa aux niveaux spécifiques et infra-spécifiques actuellement acceptés est de 307 taxa avec 208 Rhodophyta (39 familles), 51 Ochrophyta (13 familles) et 48 Chlorophyta (13 familles). Quarante-et-seize de ces taxa ne figurent pas parmi nos échantillons, alors que 93 se sont avérées nouvelles pour le PNAH. En outre, l'identité taxonomique de 30 taxa a été actualisée.

Principalement, 211 taxa (144 Rhodophyta, 30 Phaeophyceae et 37 Ulvophyceae) ont été identifiés lors de toutes nos expéditions d'échantillonnage. Sur la totalité des taxa, cinq algues rouges ont été signalées pour la première fois dans toute la Méditerranée: *Champia compressa*, *Diplothamnion jolyi*, *Polysiphonia havanensis*, *Tiffaniella gorgonea*, *Jania capillacea*, et neuf espèces pour le Maroc: 8 Rhodophyta et une Chlorophyta. En outre, douze autres espèces (10 algues rouges, une algue brune et une algue verte) sont nouvellement enregistrées pour la côte méditerranéenne du Maroc. La confirmation de citations antérieures a été précisée pour 20 espèces en Afrique, au Maroc ou sur la côte méditerranéenne marocaine.

Du point de vue bio-potentialité, nous avons entrepris des investigations pharmaco-chimiques des extraits d'algue brune *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*) issue de PNAH. Les fractions de l'hexane (CtH), de dichlorométhane (CtD) et de méthanol (CtM) ont été soumises à une analyse par spectrométrie de masse par chromatographie en phase liquide, puis évaluées pour déterminer leur contenu phénolique total (dosage de Folin-Ciocalteu), l'activité antioxydante (dosage de DPPH), le potentiel cytotoxique (test MTT sur la lignée cellulaire de SH-SY5Y) et la capacité à générer du H₂O₂ par le test Amplex Red.

Les analyses chromatographiques et phénoliques des 12 fractions indiquent que nombreuses phénols à activité redox sont présentes en abondance et que les fractions apolaires contiennent une grande quantité de dérivés prénylés d'hydroquinone. Dans les fractions CtH et CtD, l'activité antioxydante et cytotoxique est étroitement liée à leur contenu phénolique. Dans les fractions CtM, l'activité antioxydante est positivement liée au contenu phénolique, tandis que la cytotoxicité révèle une liaison négative avec celui-ci. Pour les mêmes tests, l'hydroquinone se comporte à la fois comme agent cytotoxique et antioxydant puissant. Le dosage de H₂O₂ montre que les fractions de *C. tamariscifolia* et l'hydroquinone peuvent s'auto-oxyder et générer du H₂O₂.

En conclusion, nos résultats pharmaco-chimiques montrent que les phénols rédox-actifs produisent les effets pharmacologiques décrits pour *C. tamariscifolia*. Le cycle hydroquinone de dérivés prénylés d'hydroquinone est responsable à la fois des effets cytotoxiques (via un mécanisme prooxydant secondaire à son autoxydation) et des effets antioxydants des fractions apolaires.

Mots clés : Algues marine, checklist, Parc National d'Al-Hoceima, aires marines protégées de la Méditerranée, Maroc, *Carpodesmia tamariscifolia*, *Cystoseira*, études pharmaco-chimiques, antioxydant, cytotoxique, composés phénoliques, redox-active.

Resumen

El Mar mediterráneo es uno de los puntos clave de la biodiversidad marina, estando clasificado como uno de los más interesantes del mundo. Por lo tanto, está considerado un medio adecuado para estudiar los ecosistemas marinos. Sin embargo, la diversidad y la potencialidad farmacológica de las algas marinas de la cuenca mediterránea, están aún lejos de ser plenamente conocidas, y esto ocurre también en las zonas marinas protegidas del Mediterráneo, incluido el Parque Nacional del Al-Hoceima en Marruecos (PNAH).

Este trabajo, contribuyó a la realización de la primera *checklist* de las algas marinas del PNAH, basada principalmente en nuestras propias colecciones originales, y completada con la bibliografía disponible. Tomando como base la taxonomía actual, el número total de taxones a niveles específicos e infraespecíficos descritos en el PNAH es de 307, 208 Rhodophyta (39 familias), 51 Ochrophyta (13 familias) y 48 Chlorophyta (13 familias). Noventa y seis de estos taxones no se encuentran entre nuestras muestras, mientras que 93 han resultado ser nuevas en el PNAH. Además, se ha actualizado la identidad taxonómica de 30 taxones.

Principalmente, se identificaron 211 taxones (144 Rhodophyta, 30 Phaeophyceae y 37 Ulvophyceae) en todas nuestras muestras. De la totalidad de los taxones, por primera vez se han notificado cinco nuevas algas rojas en el Mediterráneo: *Champia compressa*, *Diplothamnion jolyi*, *Polysiphonia havanensis*, *Tiffaniella gorgonea*, *Jania capillacea*, y nueve en Marruecos: 8 Rhodophyta y una Chlorophyta. Por otra parte, otras doce especies (10 algas rojas, 1 alga parda y 1 alga verde) se han descrito recientemente en la costa mediterránea de Marruecos. Además, también se mencionan los registros confirmados de 20 especies, ya sea en África, en Marruecos o en la costa mediterránea marroquí.

Desde el punto de vista del interés biológico de las algas descritas, se investigaron química y farmacológicamente varios extractos y fracciones del alga parda *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*) del PNAH. Los extractos de hexano (CtH), diclorometano (CtD) y metanol (CtM) y sus correspondientes fracciones (12 en total) se analizaron mediante cromatografía de capa fina y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas de alta resolución. En ellas también se evaluó su contenido fenólico total (ensayo de Folin-Ciocalteu), su actividad antioxidante (ensayo DPPH), su potencial citotóxico (prueba MTT en la línea celular de SH-SY5Y) y su capacidad de generar H₂O₂ (prueba Amplex Red).

Los análisis cromatográficos y la cuantificación del contenido fenólico, indican que en todas las fracciones abundan fenoles redox activos, y que las fracciones apolares son ricas en derivados prenilados de la hidroquinona. En las fracciones procedentes de CtH y CtD, se observó una importante actividad antioxidante y citotóxica que está estrechamente relacionada con su contenido fenólico. En las fracciones CtM, el efecto antioxidante observado se relaciona positivamente con el contenido fenólico, mientras que el efecto citotóxico lo hace negativamente. En las mismas pruebas, la hidroquinona se comportó tanto como un potente agente citotóxico como antioxidante. Los estudios realizados con la prueba Amplex Red, indican que las fracciones de *C. tamariscifolia* y la hidroquinona pueden auto-oxidarse y generar H₂O₂. Por todo ello, los fenoles redox activos presentes en *C. tamariscifolia* serían los responsables tanto de los efectos antioxidantes como citotóxicos. En el caso de las fracciones apolares, el grupo hidroquinona de los derivados prenilados de la hidroquinona, sería el responsables de los efectos citotóxicos (a través de un mecanismo prooxidante secundario a su auto-oxidación) y de los efectos antioxidantes (mecanismos clásicos).

Palabras clave: Algas marinas, Checklist, Parque Nacional Al-Hoceima, Marruecos, áreas marinas protegidas del Mediterráneo, *Carpodesmia tamariscifolia*, *Cystoseira*, evaluación química y farmacológica, antioxidante, citotóxico, compuestos fenólicos, redox activos

Abstract

The Mediterranean Sea considered as a marine biodiversity hot spot. Despite this, the seaweeds diversity and bioactivity of the Mediterranean basin are still not fully known, especially in the Mediterranean Marine Protected Areas (MPAs) including, Al-Hoceima National Park of Morocco (PNAH).

This thesis improves the knowledge of the macroalgal flora from the Mediterranean of Morocco and provides the first comprehensive checklist of the seaweeds of PNAH, based chiefly on our own original collections, and complimented by literature records.

Using present-day taxonomy, the total number of taxa at both specific and infraspecific levels currently accepted is 307 taxa with 208 Rhodophyta (39 families), 51 Ochrophyta (13 families) and 48 Chlorophyta (13 families). Ninety six of these taxa were not found in our samples, 93 were new to the PNAH, and the taxonomic identity of 30 taxa was amended.

Principally, 211 taxa (144 Rhodophyta, 30 Phaeophyceae and 37 Ulvophyceae) were identified from all of our sampling expeditions. From the totality of taxa, five red algae were signaled for the first time in the Mediterranean Sea: *Champia compressa*, *Diplothamnion jolyi*, *Polysiphonia havanensis*, *Tiffaniella gorgonea*, *Jania capillacea*, nine species were newly reported from Morocco: 8 Rhodophyta and one green alga. Furthermore, 12 others species (10 red, 1 brown and 1 green alga) are new records for the Mediterranean coast of Morocco. Besides this, confirmed records are mentioned for 20 species, whether in Africa, in Morocco or in the Moroccan Mediterranean coast.

This accessible checklist to the international community could serve as an infrastructure for future algal investigations of the taxa in this Specially Protected Area of Mediterranean Importance.

Regarding the pharmacochemical studies, the brown alga *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cytoseira tamariscifolia*) was extracted consecutively with hexane, dichloromethane and methanol and further fractionated using Sephadex LH-20 and silica gel columns. The twelve *C. tamariscifolia* fractions were subjected to liquid chromatography mass spectrometry analysis and evaluated for their total phenolic content (Folin-Ciocalteu assay), radical scavenging activity (DPPH assay), cytotoxic activity (MTT assay on the SH-SY5Y cell line), and ability to generate H₂O₂ (Amplex Red assay).

The chromatographic and phenolic analysis of the fractions indicate that abundant redox-active phenols are present in all the fractions and that plenty of prenylated hydroquinone derivatives are present in the apolar ones. In the hexane (CtH) and dichloromethane (CtD) fractions, the antioxidant and cytotoxic activity is closely related to their phenolic content; in the methanol fractions (CtM), the antioxidant activity is positively related to the phenolic content while the cytotoxicity is negatively related to it. For the same tests, hydroquinone behaves as both strong cytotoxic and antioxidant agent. H₂O₂ assay shows that *C. tamariscifolia* fractions and hydroquinone can autoxidize and generate H₂O₂.

Our pharmacochemicals results suggest that redox-active phenols produce the pharmacological effects described for *C. tamariscifolia*. The hydroquinone moiety of prenylated hydroquinone derivatives is the responsible for both cytotoxic (through a prooxidant mechanism secondary to its autoxidation) and antioxidant effects of the apolar fractions.

Key words: Seaweeds, Al-Hoceima National Park, Checklist, Mediterranean Marine Protected Areas, Morocco, *Carpodesmia tamariscifolia*, *Cytoseira*, pharmacochemical studies, antioxidant, cytotoxic, phenolic compounds, redox-active.

ملخص

يعتبر البحر الأبيض المتوسط نقطة ساخنة للتنوع البيولوجي البحري. مما جعله يشكل وسط مناسب لدراسة الحميلة البيئية البحرية. ومع ذلك، فإن التنوع والنشاط البيولوجي للطحالب البحرية الموجودة في حوض البحر المتوسط لا تزال غير معروفة كلياً، خاصة في المناطق البحرية المحمية في البحر المتوسط، بما في ذلك المنتزه الوطني للحسيمة (PNAH) في شمال المغرب.

الهدف الرئيسي من هذه الأطروحة هو دراسة التنوع الطحلي للمحمية المتوسطة (PNAH) ودراسة النشاط البيولوجي للطحلب البني (*Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*) عن طريق تطبيق مجموعة من الأبحاث الصيدلانية – الكيميائية.

يساهم هذا البحث في إنجاز أول قائمة مرجعية للطحالب البحرية للمنتزه الوطني للحسيمة، معتمدة بشكل رئيسي على دراستنا الميدانية إضافة إلى المراجع الموثقة سابقاً. استناداً إلى التصنيف العالمي الحالي، فإن إجمالي عدد الأصناف المقبولة حالياً هو 307 صنف، يضم 208 Rhodophyta (39 عائلة) و 51 Ochrophyta (13 عائلة) و 48 Chlorophyta (13 عائلة). ستة وتسعون صنفاً من هذه الأنواع لم يتم العثور عليها في عيناتنا الخاصة، في حين تم تحديد ثلاثة وتسعون صنفاً جديد بالنسبة للمنتزه الوطني للحسيمة. بالإضافة إلى ذلك، تم تحديث الهوية التصنيفية لـ 30 صنف.

بشكل رئيسي، تم تحديد 211 صنف (Rhodophyta 144، Phaeophyceae 30 و Ulvophyceae 37) من خلال دراستنا للعينات الميدانية. ضمن هذه الأصناف المحددة، ولأول مرة في حوض البحر الأبيض المتوسط تم العثور على هذه الأنواع من الطحالب الحمراء: *Champia*، *Diplothamnion jolyi*، *Polysiphonia havanensis*، *Tiffaniella gorgonea* و *Jania capillacea*، كما تم العثور لأول مرة أيضاً في المغرب على تسعة أنواع جديدة من الطحالب: ثمانية من Rhodophyta وواحدة من Chlorophyta، و اثني عشر نوعاً آخر تم تسجيله لأول مرة في ساحل البحر المتوسط للمغرب (10 طحالب حمراء ونوع واحد من كل من الطحالب البنية والخضراء). بالإضافة إلى ذلك، تم تأكيد وجود 20 نوع تم تحديده نادراً في بحوث سابقة سواء بالنسبة لإفريقيا، للمغرب أو لساحل البحر المتوسط المغربي.

فيما يتعلق بدراسة النشاط البيولوجي للطحلب البني *Carpodesmia tamariscifolia*، أجريت أبحاث صيدلانية-كيميائية للمستخرج الخام من هذا النوع. حيث تعرضت مجزئاته من الهكسان (CtH)، وثنائي كلورور الميثان (CtD) والميثانول (CtM) لتحليل الطيف الكتلي بواسطة التحليل الكروماتوغرافي في الطور السائل، ثم تم تقييمها لتحديد محتواها الفينولي الكلي (معايرة Folin-Ciocalteu)، نشاطها المضادات للأوكسدة (معايرة DPPH)، وقدرتها السمية للخلايا السرطانية العصبية SH-SY5Y (اختبار MTT) والقدرة على توليد H₂O₂ بواسطة اختبار Amplex Red.

تشير التحليلات الكروماتوغرافية والفينولية للمجزئات المحصل عليها إلى أن العديد من الفينولات ذات الأوكسدة النشطة موجودة بوفرة، وأن المجزئات اللاقطبية تحتوي على كمية كبيرة من مشتقات Prenylated hydroquinone. في مجزئات CtH و CtD، يرتبط النشاط المضاد للأوكسدة ونشاط السمية الخلوية ارتباطاً وثيقاً بمحتواها الفينولي. بالنسبة لمجزئات CtM، فإن نشاطها المضاد للأوكسدة يرتبط بشكل إيجابي بمحتواها الفينولي، في حين أن السمية الخلوية تكشف عن وجود علاقة سلبية معه. في ظل نفس الاختبارات، تبين أن hydroquinone يتميز بقدرة سمية قوية ومضادة للأوكسدة. توضح معايرة H₂O₂ أن مجزئات *C. tamariscifolia* ومركب hydroquinone باستطاعتهم التأكسد ذاتياً وتوليد H₂O₂.

بشكل شمولي، النتائج الصيدلانية-الكيميائية المحصل عليها تبين أن الفينولات ذات الأوكسدة النشطة هي التي تنتج التأثيرات الدوائية الخاصة بالنوع *C. tamariscifolia*. وأن جزء hydroquinone لمشتقات Prenylated hydroquinone هو المسؤولة عن كل من النشاط السمي الخلوي (عبر آلية المؤكسدات الثانوية للتأكسدها الذاتي) والنشاط المضادة للأوكسدة الناتج عن الأجزاء اللاقطبية.

كلمات البحث: الطحالب البحرية، قائمة مرجعية، المنتزه الوطني للحسيمة، المناطق البحرية المحمية في البحر الأبيض المتوسط، المغرب، *Cystoseira*، *Carpodesmia tamariscifolia*، أبحاث صيدلانية-كيميائية، مضادات الأوكسدة، السمية الخلوية، المركبات الفينولية، الأوكسدة النشطة.

Sommaire

Avant-propos	i
Liste des abréviations	v
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	x
Résumé	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
ملخص	xiv

Chapitre 1. Introduction générale

1.1 Présentation générale des algues marines	1
1.2 Les grands groupes des algues marines.....	5
1.2.1 Classification des macroalgues	5
1.2.2 Reproduction chez les macroalgues.....	6
1.2.3 Chlorophyta (Algues vertes)	6
1.2.4 Rhodophyta (Algues rouges)	7
1.2.5 Ochrophyta (Algues brunes).....	9
Présentation de genre <i>Cystoseira</i> C. Agargh	11
Espèce <i>Carpodesmia tamariscifolia</i> (Hudson) Orellana & Sansón (<i>Cystoseira</i> <i>tamariscifolia</i> (Hudson) Papenfuss).....	13
1.3 Les macroalgues marines : Source de produits naturels et de composés bioactifs	14
1.4 Propriétés antioxydante et anticancéreuse des extraits et des composés isolés à partir des algues brunes	20
1.1.1. Activité antioxydante	20
1.1.2. Activité anticancéreuse	24
1.5 Les métabolites secondaires du genre <i>Cystoseira</i> et leurs activités pharmacologiques....	27
1.6 Diversité et valorisation des algues marines au Maroc	38
1.7 Objectifs et contexte scientifique de l'étude	41
1.8 Références	43

Chapitre 2. Description de l'aire d'étude : Parc National d'Al Hoceima (PNAH)

2.1. Bref Aperçu historique du PNAH	64
---	----

2.2. Objectifs de la création et de la gestion de la partie marine du PNAH.....	65
2.3. Situation géographique du Parc National d'Al-Hoceima (PNAH).....	66
2.4. Géomorphologie côtière de PNAH.....	67
2.5. Climatologie.....	68
2.6. Océanologie.....	68
2.7. Biodiversité du Parc National d'Al-Hoceima.....	69
2.7.1. Flore du PNAH.....	70
2.7.2. Faune du PNAH.....	70
2.7.3. Habitats et espèces d'intérêt pour la conservation.....	70
2.8. Description générale des sites d'étude.....	73
2.8.1. Site de Cala Iris.....	73
2.8.2. Site de Torres.....	74
2.8.3. Site de Badis.....	74
2.8.4. Site de Topo.....	75
2.8.5. Site de Boumehdi.....	75
2.8.6. Site de Tala Youssef.....	76
2.8.7. Site de Rmoud.....	77
2.9. Références.....	78

Chapitre 3. Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area)

3.1. Résumé.....	81
3.2. Abstract.....	82
3.3. Introduction.....	83
3.4. Materials and Methods.....	84
3.4.1. Study area and time of sampling.....	84
3.4.2. Identification of marine algae.....	84
3.5. Results and Discussion.....	86
3.5.1. The Catalogue of Seaweeds.....	86
3.5.2. Floristic analysis.....	105
Rhodophyta.....	105
Ochrophyta (Class Phaeophyceae).....	107
Chlorophyta (Class Ulvophyceae).....	107
3.5.3. Comparison of total species from each sites studied.....	108

3.5.4. Comparison of the total of our seaweeds flora with authors studies.....	109
3.6. Conclusion.....	110
3.7. Acknowledgements	110
3.8. References	111

Chapitre 4: On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco)

4.1. Résumé.....	116
4.2. Abstract	116
4.3. Introduction	117
4.4. Materials and Methods	118
4.5. Results and discussion.....	119
4.5.1. <i>Polysiphonia havanensis sensu</i> Børgesen non Montagne.....	119
Habitat and collections	119
Description	119
Remarks.....	120
4.5.2. <i>Diplothamnion jolyi</i> van den Hoek	122
Habitat and collections	122
Description	122
Remarks.....	124
4.5.3. <i>Champia compressa</i> Harvey	124
Habitat and collections	125
Description	125
Remarks.....	126
4.6. Conclusions	127
4.7. Acknowledgements	127
4.8. References	128

Chapitre 5: Redox-active phenolic compounds mediate the antioxidant and cytotoxic effects of *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*)

5.1. Résumé.....	134
5.2. Abstract	135
5.3. Introduction	136
5.4. Materials and methods	137
5.4.1. Drugs, chemicals and solvents	137

5.4.2. Algae harvesting.....	137
5.4.3. Extraction and preparation of the fractions	138
5.4.4. Thin layer chromatography (TLC) analysis	138
5.4.5. Total phenolic content (TPC).....	139
5.4.6. Antioxidant activity.....	139
5.4.7. Cytotoxic activity	139
5.4.8. H ₂ O ₂ measurements.....	140
5.4.9. Liquid chromatography-mass spectrometry analysis	141
5.4.10. Data and statistical analysis.....	141
5.5. Results	141
5.5.1. Extraction and fractionation.....	141
5.5.2. Thin layer chromatography analysis	142
5.5.3. Total phenolic content (TPC)	142
5.5.4. DPPH radical scavenging activity	143
5.5.5. Cytotoxic activity	144
5.5.6. H ₂ O ₂ production in representative autoxidized solutions of <i>C. termariscifolia</i> fractions	145
5.5.7. Liquid chromatography-mass spectrometry analysis	146
5.6. Discussion	148
5.7. Conclusion.....	152
5.8. Acknowledgements	152
5.9. References	153

Chapitre 6: Conclusion générale & perspectives

Conclusions.....	156
Annexes.....	163



Chapitre 1

INTRODUCTION GENERALE



Carpodesmia tamariscifolia (PNAH), 2019

1.1. Présentation générale des algues marines

Le terme algue a été connu depuis les civilisations anciennes, introduit pour la première fois par Linnaeus en 1753. Ensuite, en 1789 A. L. de Jussieu a classé les plantes et délimiter les algues du reste du monde végétal jusqu'à son statut actuel. La branche de la botanique, qui étudie les algues, est connue sous le nom de Phycologie.

Les algues constituent un groupe hétérogène d'organismes photoautotrophes très divers dont la chlorophylle (a) est le principal pigment photosynthétique (Lee 2008). L'appareil végétatif des algues pluricellulaires est souvent bien différencié, mais toujours morphologiquement et anatomiquement différent de celui des plantes supérieures, il est relativement simple est appelé « thalle ». Les dimensions et les formes des algues sont très variables, certaines sont microscopiques (microalgues) (Figure 1.1) et d'autres sont macroscopiques (macroalgues) (Figure 1.2). Toutefois, il existe des algues qui peuvent atteindre plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Jusqu'à présent, les algues comprennent plus de 156 000 espèces et infraspécifiques espèces sont décrites dans le monde (Guiry & Guiry 2019).

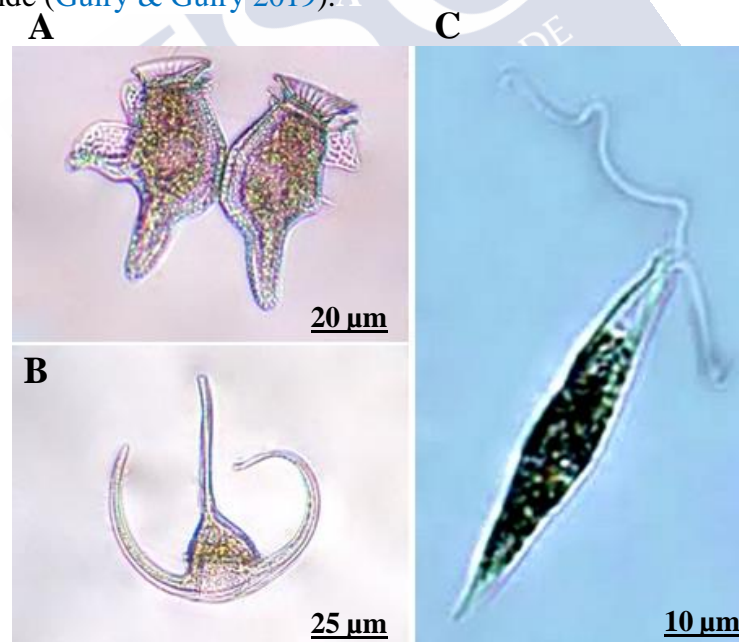


Figure 1.1. Espèces de microalgues de la côte méditerranéenne du Maroc. (A) *Dinophysis caudata*; (B) *Ceratium arietinum*; (C) Exemple d'euglénophycées du genre *Eutreptia* (Photos: G. PMA).



Figure 1.2. Espèces de macroalgues à marée basse sur la côte Méditerranéenne du Maroc (PNAH). (Photos: G. PMA).

Le terme «Seaweed» est souvent utilisé populairement pour décrire les algues marines benthiques (macroalgues). Ces macroalgues sont définies comme des organismes eucaryotes multicellulaires avec une immense diversité morphologique, outre la grande variété des structures et formes cellulaires et l'expression de leurs biocycles. Leur diversité morphologique résulte de leur origine polyphylétique au sein de l'arbre de vie des eucaryote (Keeling 2013; Barsanti & Gualtieri 2014; Silberfeld *et al.*, 2014).

Pour reconnaître une macroalgue marine, le phycologue remarquera principalement son aspect et son habitat. En ce qui concerne l'aspect, les caractères les plus intéressants pour reconnaître les macroalgues à un niveau spécifique sont essentiellement la couleur, la forme et la structure du thalle, ainsi que la présence ou non de calcification (**Figure 1.3**). Dans certains cas, des détails concernant sa reproduction et la forme des organes reproducteurs. L'identification précise du matériel biologique nécessitera une observation microscopique détaillée des caractères végétatifs et reproducteurs (Rodríguez-Prieto *et al.*, 2013).

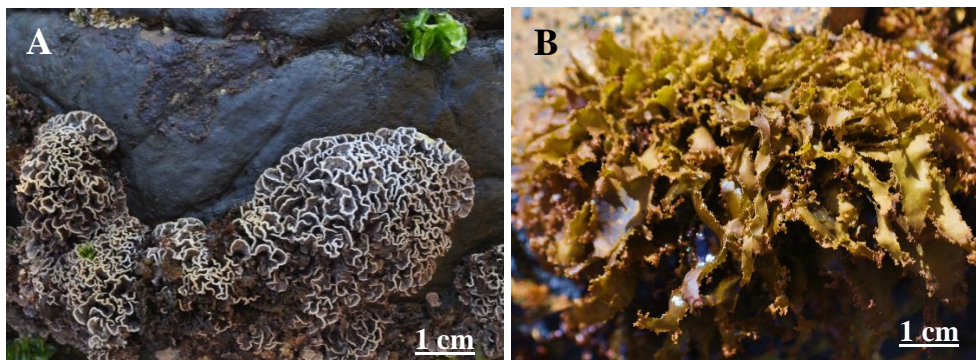


Figure 1.3. (A) Algue calcaire *Tenarea tortuosa*; (B) Algue non calcaire *Rissoella verruculosa* (PNAH). (Photos: G. PMA).

Bold et Wynne (1985) ont noté que la diversité morphologique et la cytologie des algues rendent leur détermination difficile. Les différences entre les divisions d'algues sont évidentes lorsque l'on compare les pigments photosynthétiques, les réserves alimentaires, la paroi cellulaire, type de mitose, la structure flagellaire, la morphologie et les antécédents biologiques (Tableau 1.1).

Tableau 1.1. Caractéristiques générales des cellules de différents groupes de macroalgues (Rodríguez-Prieto *et al.*, 2013. Modifiée).

	Chlorophyta (Algues vertes)	Ochrophyta (Algues brunes)	Rhodophyta (Algues rouges)
Composition pigmentaire	Chlorophylles a, b, α , β carotène et divers xanthophylles. parfois siphoneine et siphonoxanthine	Chlorophylles a, c_1 , c_2 , β carotène et divers xanthophylles	Chlorophylles a, d, α , β carotène et divers xanthophylles, Phycoérythrine, phycocyanine et allophycocyanine
Substance de réserve	Amidon, parfois fructane	Chrysolaminarine	Amidon floridéen
Nombre de membranes de chloroplastes	2	4	2
Thylakoïdes	En groupes de 2, 4, 6 ou plus, formant lamelles, pseudo-grana ou grana.	Groupés de 3 en 3	Libres non groupés
Paroi interne	Microfibrilles de cellulose	Microfibrilles de cellulose. Parfois de xylose ou omanose	Microfibrilles de cellulose.
Paroi externe	Amorphe, de nature peptidique	Amorphe, avec des alginates et polysaccharides sulfatés	Amorphe, avec des galactanes (agar et carraghénane)

Les algues marines peuvent être classées également en fonction de leurs aspects cellulaires, leurs modes de vie, leur mode de fixation aux substrats et la nature de ces derniers. Dans leur environnement naturel, les macroalgues se développent attachées aux divers supports par des structures spécifiques, qui selon leur degré de complexité morpho-anatomique seront nommées, par exemple, des crampons, des rhizoïdes et des disques. Elles peuvent s'aggrapper

à des substrats minéraux, rocheux (épilithiques) (**Figure 1.4. A**) ou sableux (épipéliques) (**Figure 1.4. B**). De même, elles peuvent se développer, sur des animaux (épizoïques) (**Figure 1.5. A**) ou sur d'autres algues (épiphytes) (**Figure 1.5. B**) Certaines algues minuscules vivent à l'intérieur d'autres thalles (endophytes) (**Figure 1.6**) ou dans les tissus d'animaux (endozoïque).

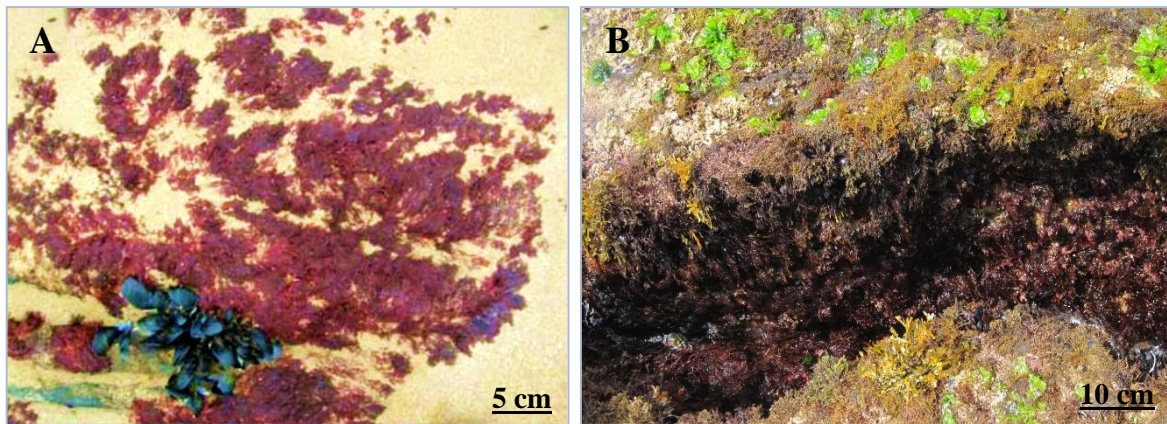


Figure 1.4. (A) Algues épilithiques: *Ceramium* sp. (B) Algues épipéliques (Photos: G. PMA).

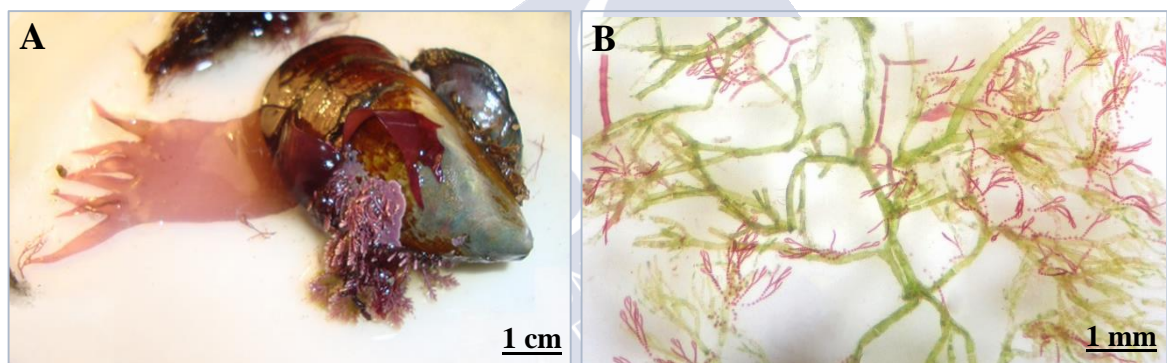


Figure 1.5. (A) Algue épizoïque: *Pachymeniopsis lanceolata* sur un bivalve; (B) Algue épiphyte: *Ceramium diaphanum* sur *Cladophora* sp. (Photos: G. PMA).

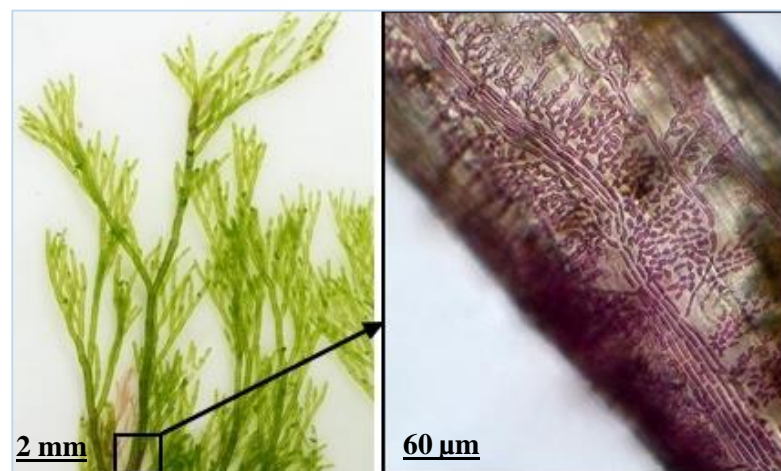


Figure 1.6. Algue endophyte: *Schmitziella enodophloea* dans *Lychaete pellucida* (Photos: G. PMA).

W.H. Harvey est considéré comme l'un des premiers phycologues qui a proposé la première classification descriptive des algues, alors qu'il a repris les idées de Lamouroux (1813). Depuis W.H. Harvey (1836), plusieurs classifications ont été proposées en fonction de divers caractères, notamment morphologiques, physiologiques, biochimiques et, plus récemment, les caractères moléculaires ont également été pris en compte.

1.2. Les grands groupes des algues marines

1.2.1. Classification des macroalgues

La classification est le regroupement systématique d'organismes en catégories sur la base de relations entre eux, cette relation pouvant être évolutive ou structurelle.

Conformément au code international de nomenclature botanique (ICBN), les principaux rangs hiérarchiques pour la classification des algues sont: la Division (Phylum, Embranchement), la Classe, l'Ordre, la famille, le Genre et l'Espèce, (Chapman & Chapman 1973; Tehler 1996; Silva *et al.*, 1996; Sharma 2011). Les différentes catégories recommandées pour les d'algues, par ICBN sont illustrées dans le **tableau 1.2.**

Tableau 1.2. Suffixes utilisés pour désigner les groupes régis par le code de la nomenclature botanique (ICBN), selon le rang des algues.

Rang du taxon des algues	Suffixe	Exemple
Embranchement ou Phylum	-phyta	Chlorophyta
Sous-phyllum	-Phytina	Chlorophytina
Classe	-phyceae	Ulvophyceae
Sous-classe	-phycidae	-
Ordre	-ales	Cladophorale
Sous- ordre	-inale	-
Familles	-aceae	Cladophoraceae
Sous-famille	-oideae	-
Tribu	-eae	-
Sous- tribu	-inae	-

Le système de classification des macroalgues a toujours connu une évolution au fil des années. Il est généralement admis, selon les travaux de Pereira (2009, 2010, 2018), que les algues vertes sont incluses dans le phylum Chlorophyta reconnues par une pigmentation

identique à celle des plantes terrestres (chlorophylles a, b et caroténoïdes), les algues rouges appartiennent au phylum Rhodophyta dont les pigments photosynthétiques sont la chlorophylle a, les phycobilines (R-phycoyanine et R-phycoérythrine) et les caroténoïdes, principalement le β -carotène, la lutéine et la zéaxanthine. Alors que les algues brunes font partie du phylum Ochrophyta (ou Heterokontophyta), classe Phaeophyceae, avec un complexe pigmentaire renfermant des chlorophylles a, c et des caroténoïdes, dominés par les xanthophylles dont la fucoxanthine.

1.2.2. Reproduction chez les macroalgues

Il existe deux modes de reproduction chez les algues. Le mode asexué qui est assez fréquent chez l'ensemble des algues. Dans ce cas, l'algue se reproduit sans l'intervention d'organes sexuels, ce qui fait que l'individu descendant manifèstera des caractéristiques génétiques identiques à l'individu souche. Elle se fait de trois différentes façons: par la production de structures pluricellulaires particulières (propagules, proliférations..), par le bris d'une partie d'un thalle, par bourgeonnement, ou par apparition d'une masse de cellules spécialisées sur le thalle (spores). Ces différentes structures, après séparation de l'individu mère, donneront de nouveaux individus typiquement identiques aux parentaux. Le mode sexué: Il est fréquent et aléatoire, l'individu naît de la fusion de deux gamètes (cellules sexuelles) qui donnera un individu génétiquement différent de l'individu souche.

Les algues rouges sont les seuls végétaux connus qui se reproduisent avec alternance de trois générations. La reproduction ne fait jamais intervenir d'éléments flagellés. La fécondation est comparable à une oogamie dans laquelle les gamètes mâles (spermaties) dépourvues de mobilité sont transportés passivement sur une partie réceptrice caractéristique de l'ooyste (carpogone) nommée le trichogyne ([Ozenda 2000](#)).

1.2.3. Chlorophyta (Algues vertes)

Les algues vertes (**Figure 1.7**) sont comme toutes les macrophytophytes photosynthétiques qui jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux. Elles sont caractérisées par la présence de chloroplastes à double membrane et à thylacoïdes empilés (rappelant l'organisation granulaire des Embryophytes), les chlorophylles (a) et (b) et de l'amidon intraplastidial colorable en bleu par la solution iodo-iodurée. Les cellules constituant le thalle sont eucaryotes et contiennent donc tous les organites cellulaires tels que des noyaux bien organisés, des plastides membranaires, des mitochondries, des corps de Golgi, du réticulum endoplasmique et des vraies vésicules. Les formes nageuses possèdent en général deux ou quatre flagelles (parfois plus) lisses, identiques acrocontées ou stéphanocantées ([Mattox & Stewart 1984](#); [Hoffmann 1989](#);

Chapman *et al.*, 1991; Leliaert & Coppejans 2006; Norris 2010; Lemieux *et al.*, 2015; Boedeker *et al.*, 2016). Jusqu'à maintenant, environ de 4270 espèces d'algues vertes ont été identifiées à l'échelle mondiale (Guiry 2012; Guiry & Guiry 2019).



Figure 1.7. Algues vertes. (A) *Ulva* sp.; (B) *Codium tomentosum*; (C) *Codium adhaerens*; (D) *Ulva intestinalis* (Photos: G. PMA).

1.2.4. Rhodophyta (Algues rouges)

Les Rhodophytes ou algues rouges (**Figure 1.8**) forment un groupe très diversifié, elles sont rarement unicellulaires mais le plus souvent filamenteuses ou à aspect plus ou moins compacte, avec une disposition plus ou moins hiérarchisée des rameaux. Leur structure peut être uni-ou multiaxiale. Ces algues sont les seuls végétaux connus qui se reproduisent avec alternance de trois générations et aucune phase de leur biocycle ne fait apparaître de stades flagellés.

Les algues rouges ne produisent pas d'amidon proprement dit, mais un glucide de plus faible poids moléculaire, analogue au glycogène, appelé «amidon floridéen» ou rhodamylon (Ozenda 2000; Feldmann 2008), c'est un amidon particulier toujours extraplastidial prenant une teinte rougeâtre au contact de l'iode. Leurs pigments sont constitués par des chlorophylles (a)

et (d), des α et β -carotènes, des xanthophylles et des biliprotéines (Phycoérythrine et Phycocyanine).

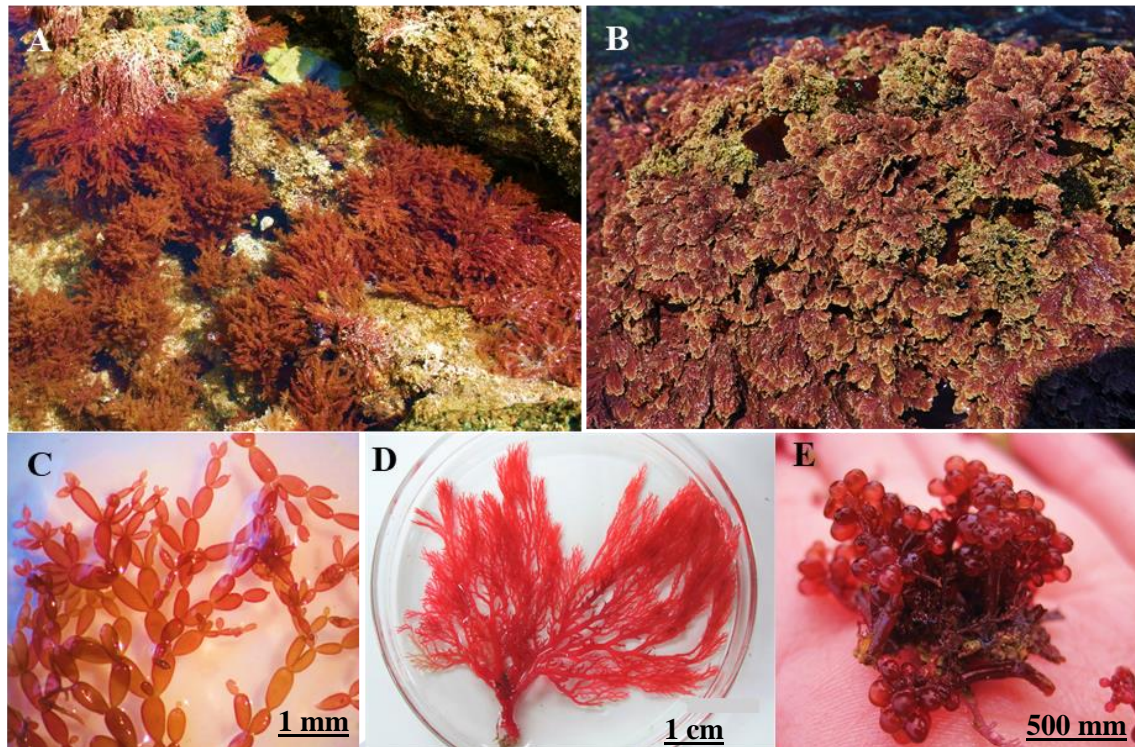


Figure 1.8. Algues rouges. (A) *Asparagopsis armata*; (B) *Ellisolandia elongata*; (C) *Lomentaria articulata*; (D) *Sphaerococcus coronopifolius*; (E) *Botryocladia botryoides* (Photos: G. PMA).

Parmi les algues rouges marines, il existe des formes plus ou moins volumineuses et charnues se rencontrant dans les régions tempérées fraîches, tandis que les espèces trouvées dans les mers tropicales sont généralement petites et filamenteuses. Elles présentent également un degré élevé d'épiphytisme et de parasitisme avec une spécificité considérable. Les espèces épiphytes possèdent une forme et une pigmentation normales, mais les espèces parasites présentent une grande réduction de leur forme et de leur pigmentation. Le thalle des algues rouges se caractérise par la formation de synapses secondaires (**Figure 1.9**). Certaines espèces peuvent présenter également des cellules spécialisées comme les cellules sécrétrices (**Figure 1.10**).

Les Rhodophytes ont la capacité de vivre plus profondément que les espèces d'autres groupes d'algues. Certains genres tels que *Gigartina* et *Schizymenia* puissent atteindre jusqu'à un mètres (Smith 1944; Maggs & Hommersand 1993) et deux mètres (Abbott 1967; Norris 2014) respectivement. Toutefois, les algues rouges n'atteignent généralement pas la taille des grandes algues brunes. Le phylum Rhodophyta regroupe environ 7280 espèces (Guiry 2012; Guiry & Guiry 2019) et elles sont les plus nombreuses et les plus diversifiées.

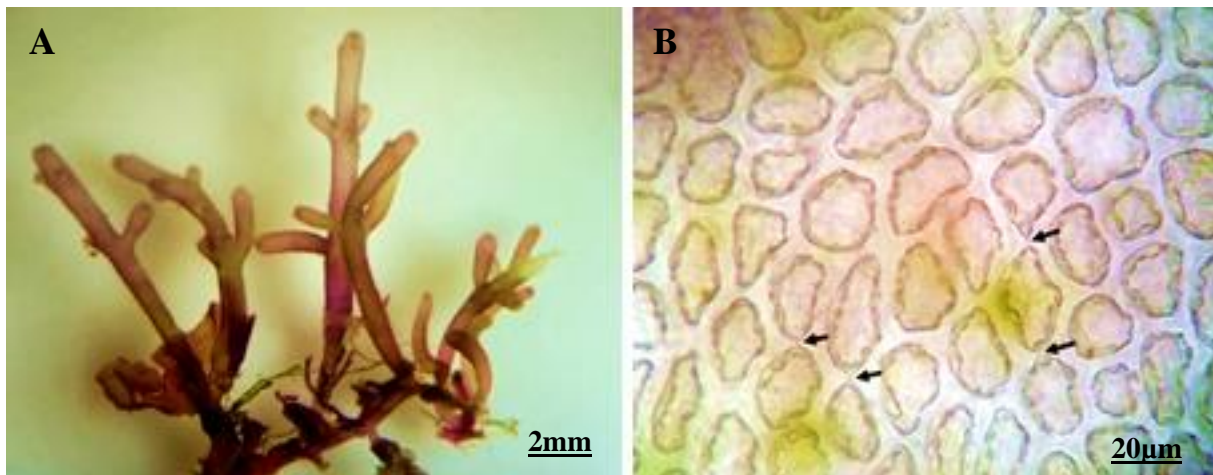


Figure 1.9. (A) Aspect generale de *Laurencia tenera*; (B) Synapses secondaires (Photos: G. PMA).

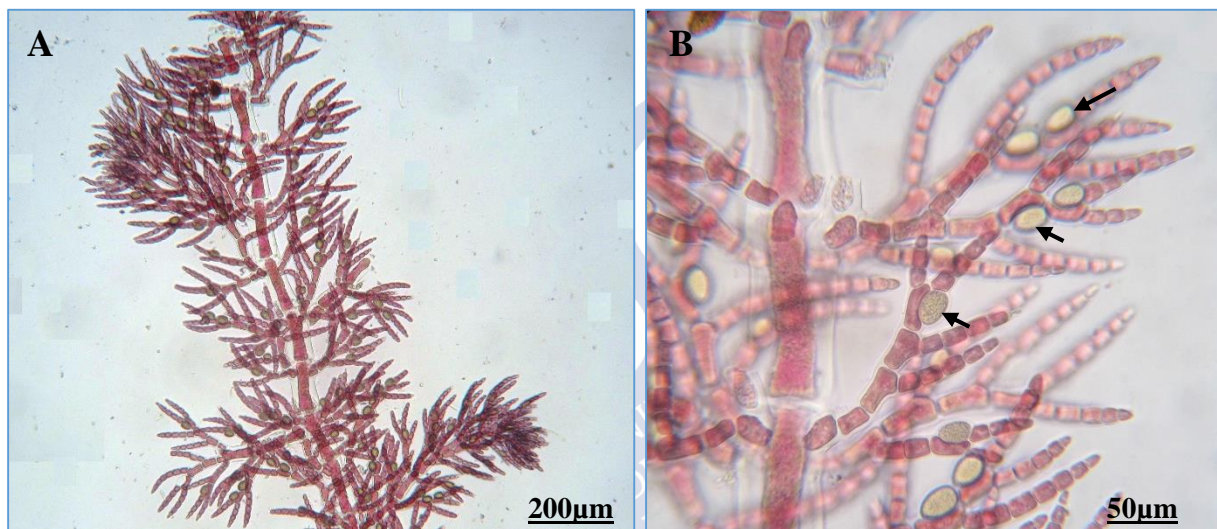


Figure 1.10. (A) Aspect generale de *Antithamnionella boergesenii*; (B) Cellules sécrétrices (Photos: G. PMA).

1.2.5. Ochrophyta (Algues brunes)

Les algues brunes (**Figure 1.11**) présentent toujours une structure filamenteuses plus ou moins compacte, mais jamais unicellulaires, elles sont souvent de grande taille et certaines peuvent atteindre 75 mètres de longueur (*Macrocystis pyrifera*, connu sous le nom kelp géant). Elles possèdent des plastes bruns contenant des chlorophylles (a) et (c), du β -carotène et des xanthophylles (surtout de la fucoxanthine et de la diatoxanthine). Elles ne produisent jamais d'amidon et leurs matières de réserve consistent en laminarine et en mannitol. Leur couleur est due à l'abondance des pigments bruns, la fucoxanthine, qui masque les chlorophylles (a) et

(c). Leur couleur brune est également influencée par la présence de phlorotannins stockés dans des vésicules appelées physodes (Goodwin 1974; Schoenwaelder 2008).

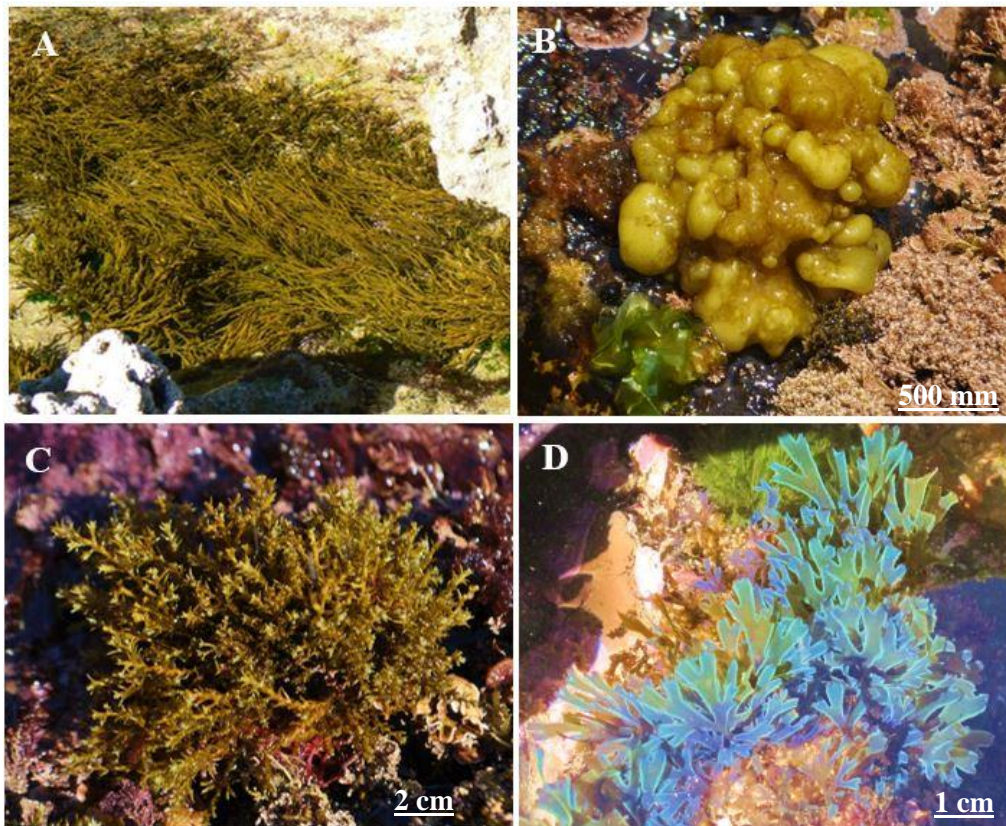


Figure 1.11. Algues brunes. (A) *Bifurcaria bifurcata*; (B) *Colpomenia sinuosa*; (C) *Carpodesmia tamariscifolia*; (D) *Dictyota dichotoma* (Photos: G. PMA).

Les espèces d'Ochrophyta se rencontrent dans toutes les mers du monde, mais principalement diversifiées dans les mers froides et tempérées où elles forment les grandes forêts sous-marines. Elles peuvent aussi être trouvées dans les eaux tropicales, mais représentent des espèces de grands thalles et forment les populations les plus denses.

Les Phaéophytes sont adaptées à une grande variété de niches écologiques marines, un grand nombre d'espèces se trouve dans la zone intertidale ou littorale supérieure, où les facteurs environnementaux tels que la température et la salinité peuvent changer considérablement en 24 heures.

Les algues brunes comprennent plus de 4250 espèces (Guiry 2012; Guiry & Guiry 2019), la majorité sont regroupées dans la classe des Phaéophyceae (environ 2058 espèces), dont l'ordre Fucales renferme plus de 550 espèces se répartissent en 9 familles, dont la famille Sargassaceae présente plus de 90% de la totalité des espèces identifiées (environ 515). Parmi les 59 des genres cités de cette famille, on trouve le genre *Cystoseira* qui regroupe 33 des espèces (Guiry & Guiry 2019).

- **Présentation de genre *Cystoseira* C. Agargh**

Le genre *Cystoseira* a été décrit pour la première fois par C. Agardh (1820) dans son livre intitulé *Species algarum*, cette nomenclature provient d'une caractéristique morphologique, l'existence de flotteurs (*cysto-*) arrangés en chaînes (*-seira*) sur le thalle de ces spécimens. *Cystoseira* est un genre polyphylétique d'algues marines, qui regroupe actuellement 33 espèces et 14 taxa intraspécifiques réparties dans le monde entier dans des eaux subtropicales (Guiry & Guiry 2019). En effet, ce genre exclusivement marin, la plupart de ses espèces se répandent le long de la Méditerranée et sur les côtes de l'Atlantique Nord-Est, du Cap-Vert aux îles Britanniques (Amico 1995; Draisma *et al.*, 2010; Guiry & Guiry 2019).

Du point de vue morphologique, *Cystoseira* se caractérise par un thalle partiellement vivace qui peut varier de 30 cm à quelques mètres de longueur, avec un aspect cylindrique (Ex: *Cystoseira usneoides* (Linnaeus) M.Roberts) ou aplatis (Ex: *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin). Les thalles sont fixés au substrat rocheux par un disque conique à base fibreuse. Leur morphologie très ramifiée confère à ces algues une caractéristique semblable à un arbuscule (Figure 1.12). Les rameaux latéraux sont ramifiés à plusieurs reprises de manière pennée une, deux ou trois fois et portent parfois de courts appendices filiformes ou spiniformes. En dépit de ses caractéristiques communes, l'accent est mis sur la variabilité du genre, non seulement entre les espèces, mais aussi entre les individus d'une même espèce et dans le même individu au cours des différentes saisons (Roberts 1967).



Figure 1.12. Organisation générale d'un thalle de *Carpodesmia tamariscifolia*. (A) Disque basal; (B) Axe primaire épais; (C) Axe secondaire; (D) Axe tertiaire (Réalisation, H. Moussa).

Il convient de noter également le fait que certaines espèces (*C. tamariscifolia* (Hudson) Papenfuss et *C. nodicaulis* (Withering) M. Roberts, par exemple) peuvent présenter une irisation bleue, violette ou verte lorsqu'elles sont observées sous l'eau (**Figure 1.13**). L'irisation peut varier chez différents individus de la même espèce sous différentes latitudes, ou chez le même individu à différentes périodes de l'année (Ercegovic 1952; Norris 2010; Cormaci *et al.*, 2014). Des études ont révélé que l'irisation est due à des inclusions cellulaires de type physodes, qui sont protéiques et contiennent également des polysaccharides et des composés phénoliques tels que les phlorotannins (Pellegrini 1980; Ragan & Craigie 1976).



Figure 1.13. Irisation bleue sous l'eau chez l'algue brune *Carpodesmia tamariscifolia* (Anon 2017).

Très récemment, Orellana *et al.* (2019) ont analysé la diversité et la relation phylogénétique des spécimens du genre *Cystoseira sensu lato* de l'Atlantique Est et de la Méditerranée. Les résultats de cette étude fournissent des preuves solides pour résoudre les problèmes et les aberrations taxonomiques connues entre la plupart des espèces répertoriées sous le genre *Cystoseira* dans l'Atlantique Est et en Méditerranée. Ce genre, si diversifié, se montre alors réparti en trois clades (représentant trois genres). En effet, des études morphologiques ont confirmé parfaitement la distinction entre ces genres:

Le premier clade correspond au genre *Cystoseira sensu stricto*, y compris l'espèce type *C. foeniculacea* (Linnaeus) Greville (Ex: *C. compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin, *C. humilis* Schousboe ex Kützing). Les espèces de *Cystoseira* se caractérisent par un aspect caespiteux et la présence des réceptacles à conceptacles groupés sans appendices épineux.

Le deuxième clade correspond à *Treptacantha* gen. emend., avec *Treptacantha abies-marina* (S.G. Gmilin) Kützing, comme espèce type. Onze autres espèces de l'Atlantique et/ou de la Méditerranée ont été transférées à ce genre. Le concept de *Treptacantha* a été mieux

redéfini en utilisant les caractères morphologiques suivants: rameaux primaires lisses au moins dans la région basale, cellules corticales à parois épaisses et des cellules du méristoderme de forme carrée en coupe transversale.

Le dernier clade correspond à *Carpodesmia* gen. emend., avec *Carpodesmia zosteroides* (Turner) Greville, comme espèce type. Six autres espèces méditerranéennes plus *Carpodesmia tamariscifolia* atlantico-méditerranéenne ont été transférées à ce genre. Le concept de *Carpodesmia* était mieux défini pour inclure de nouvelles caractéristiques morphologiques: tous les rameaux ont des épines, des cellules corticales à parois minces et des cellules du méristoderme rectangulaires en coupe transversale.

- **Espèce *Carpodesmia tamariscifolia* (Hudson) Orellana & Sansón (*Cystoseira tamariscifolia* (Hudson) Papenfuss)**

Les côtes méditerranéennes du Maroc abritent plusieurs espèces des Sargassaceae, parmi lesquelles, on trouve *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*) (**Figure 1.14**) qui est l'une des espèces les plus abondantes. Elle a été observée pour la première fois par Linnée en 1759 et citée à l'époque comme «*Fucus selaginoides*», puis redécrite par Hudson en 1762 qui lui a attribué le nom basionyme *Fucus tamariscifolius*. La dénomination actuelle a été donnée par Orellana & Sansón in Orellana *et al.* (2019).



Figure 1.14. *Carpodesmia tamariscifolia* du Parc National d'Al-Hoceima (Photos: G. PMA)

Carpodesmia tamariscifolia est une algue érigée, touffue, de couleur brune dont les thalles peuvent atteindre 60 cm de hauteur, mais généralement de 30 à 45 cm. La fronde est cylindrique avec des rameaux irréguliers. Les organes reproducteurs localisés à l'extrémité des rameaux sont longs, ovales et épineux. Elles présentent, selon l'habitat et les saisons, des petites aérocystes volumineux qui se localisent généralement en dessous des organes reproducteurs.

Lorsque la plante est observée dans son milieu naturel (sous l'eau), elle présente une irisation bleu-vert. Cette espèce peut être localisée dans les cuvettes rocheuses du médiolittoral jusqu'à l'infra-littoral supérieur (**Figure 1.15**). Elle pousse sur les rivages rocheux et les plaines graveleuses (Pereira 2015, 2016).

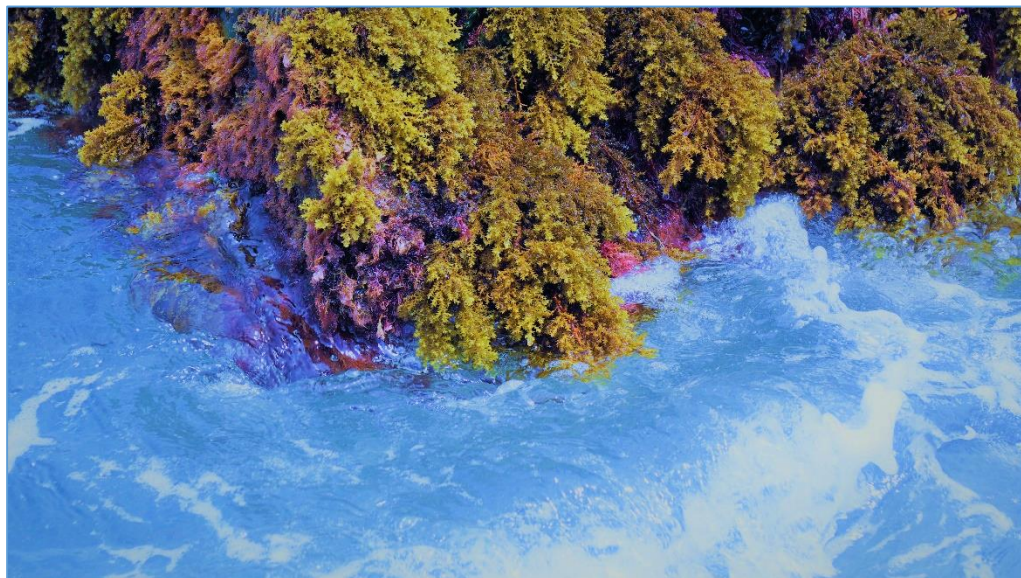


Figure 1.15. *Carpodessmia tamariscifolia* dans l'infra-littoral supérieur (PNAH) (Photos: G. PMA)

L'espèce s'étend sur les côtes Atlantiques de l'Europe et de l'Afrique (Prud'homme van Reine *et al.*, 2005; García-Fernández & Bárbara 2016; Gallardo *et al.*, 2016; Anon 2017; Bermejo *et al.*, 2018; Burel *et al.*, 2019). Des populations ont également été signalées en Méditerranée (Taşkin *et al.*, 2008, 2012; Ould-Ahmed *et al.*, 2013; Moussa *et al.*, 2018).

Dans l'ensemble, les macroalgues intertidales vivent dans des habitats complexes soumis à des conditions environnementales extrêmes (par exemple, les fluctuations de la salinité, les variations de la température, disponibilité des nutriments, les effets de l'irradiation UV-Vis et de la pression). Par conséquent, ces conditions ont conduit à l'élaboration de stratégies de défense chimique conduisant à la création d'une grande variété de métabolites secondaires et une diversité significative de composés naturels avec différentes structures chimiques (Cardozo *et al.*, 2007).

1.3. Les macroalgues marines: Source de produits naturels et de composés bioactifs

La biodiversité est vitale dans le screening de nouvelles entités chimiques lors de la recherche et la découverte des produits naturels actifs. Dans ce contexte, la recherche de nouveaux composés biologiquement actifs provenant d'organismes marins peut être considérée

comme un champ presque illimité. Les organismes marins produisent une grande quantité de métabolites secondaires que l'on ne trouve souvent pas dans les organismes terrestres.

Depuis le début de l'histoire humaine jusqu'à nos jours, les algues marines jouent un rôle majeur en tant que producteurs primaires dans les océans, outre qu'elles sont considérées comme une source majeure d'aliments et de divers produits de consommation. Plus récemment, elles sont devenues des sources principales de composés bioactifs naturels à utiliser dans différents domaines tels que les produits pharmaceutiques et cosmétiques (Faulkner 2002). Environ 150 espèces de macroalgues sont consommées comme aliments et 250 ont d'autres utilisations commerciales (Kumari *et al.*, 2011).

Les macroalgues possèdent des capacités biologiques intéressantes qui peuvent améliorer la santé humaine, en raison de leur faible teneur en lipides et de leurs concentrations élevées en vitamines, minéraux, protéines, fibres alimentaires et polysaccharides (Barsanti & Gualtieri 2006; Pereira 2012; Wells *et al.*, 2017). Ainsi, les progrès technologiques ont permis d'en extraire des produits nutraceutiques d'importance commerciale des algues marines, notamment les AGPI ω -3, les caroténoïdes, la fucoxanthine, la phycoérythrine et le β -carotène (Kim 2013).

Traditionnellement, les algues ont été incorporées dans le régime alimentaire via des sushis, des salades, des soupes, etc. Récemment, les algues fraîches et séchées ont acquis une popularité croissante dans la cuisine gastronomique en tant qu'accompagnements, garnitures et condiments. Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO; 12), 1.1 million de tonnes d'algues sont récoltées chaque année, la majeure partie de la biomasse étant utilisée dans les industries des phytocolloïdes et de l'alimentation (Bixler & Porse 2011; Stengel & Connan 2015). En 1990, le gouvernement français a publié une réglementation sur l'utilisation des algues marines (y compris plusieurs algues brunes telles que *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Fucus serratus* et *Undaria pinnatifida*) en tant qu'ingrédients bruts ou semi-transformés dans les aliments préparés. En effet, plusieurs espèces sont consommées après avoir subi seulement des traitements mineurs tels que le séchage. Les algues ont également été utilisées dans de nombreux pays d'Asie de l'Est (Japon, Corée et Chine) et dans les cultures celtiques d'Europe (Irlande, Écosse et Bretagne) comme additifs dans les domaines de la cosmétique et de l'industrie alimentaire (Rebours *et al.*, 2014; Anis *et al.*, 2017).

Les applications cosmétiques des algues marines sont bien connues depuis longtemps et sont utilisées dans la préparation du savon, des lotions, des nettoyants, des crèmes, du shampoing, les soins de visage, etc. L'amélioration cosmétique est devenue significative en raison de la présence de composés bioactifs. Comme l'exemple de l'entreprise «Celtalga

Extract», qui est une spin-off de l'université de Santiago de Compostela (USC, Espagne), dont l'activité est axée sur la production des produits cosmétiques à base d'extraits aqueux des algues de la côte galicienne, principalement *Ascophyllum nodosum*, *Undaria pinnatifida*, *Fucus vesiculosus*, *Sargassum muticum* et *Ulva lactuca*.

Comme les plantes terrestres, les algues possèdent, aussi des molécules et des substances favorables à la santé et qui sont essentiels pour les produits cosmétiques, tels que les fibres alimentaires, les acides gras ω -3, les acides aminés nécessaires, les vitamines A, B, C et E.

Les extraits d'algues marines présentent de nombreux avantages connus depuis des milliers d'années, mais leurs principes actifs ne sont reconnus que depuis l'époque moderne. La chimie des produits naturels (PNs) est l'un des domaines les plus développés en biotechnologie. Toutefois, la découverte de nouveaux composés à partir des algues est généralement étayée par des méthodes analytiques telles que la RMN et la spectroscopie. En effet, la phytochimie des macroalgues a commencé dans les années soixante du XX siècle (Faulkner 1984), et depuis lors, les macroalgues ont présenté plus de 3000 PNs, ce qui représente environ 13% des composés signalés chez des organismes marins en général (Leal *et al.*, 2013; Blunt *et al.*, 2015). En particulier, la revue bibliographique de Leal *et al.*, (2013) montre que la plupart des PNs dérivés d'algues ont été isolés de Rhodophyta (53% du total sur la période 1965-2012), suivi des Ochrophyta (39%) puis de Chlorophyta (8%).

Il est à noter que, la composition chimique des algues dépend de divers facteurs tels que l'espèce, la période de la collecte, l'habitat géographique, la température de l'eau, l'intensité lumineuse et la disponibilité des éléments nutritifs dans l'eau (Mabeau & Fleurence 1993; Marinho-Soriano *et al.*, 2006). Par conséquent, on constate souvent que de grandes différences de composition peuvent s'observer entre des macroalgues du même genre et de la même espèce (Martínez & Rico 2002; Dawczynski *et al.*, 2007), ce qui rend les comparaisons difficiles. Il paraît alors important de disposer d'une estimation du profil nutritionnel des macroalgues comestibles.

Les macroalgues sont considérées comme une excellente source naturelle de métabolites primaires et secondaires qui pourraient conduire au développement d'aliments innovants et de nouveaux composés dotés d'un large éventail d'activités biologiques (Figure 1.16). Cette activité peut être définie comme l'effet spécifique d'une substance, ou une réaction d'un être vivant (organisme, organe, tissu, cellule, enzyme) contre son exposition à un composé donné ou un mélange de composés (par exemple des extraits). Les composés bioactifs présents dans

les algues ont été identifiés comme étant des polysaccharides, des acides gras, des glycolipides, des stéroïdes, les pigments, les composés phénoliques et les terpénoïdes.

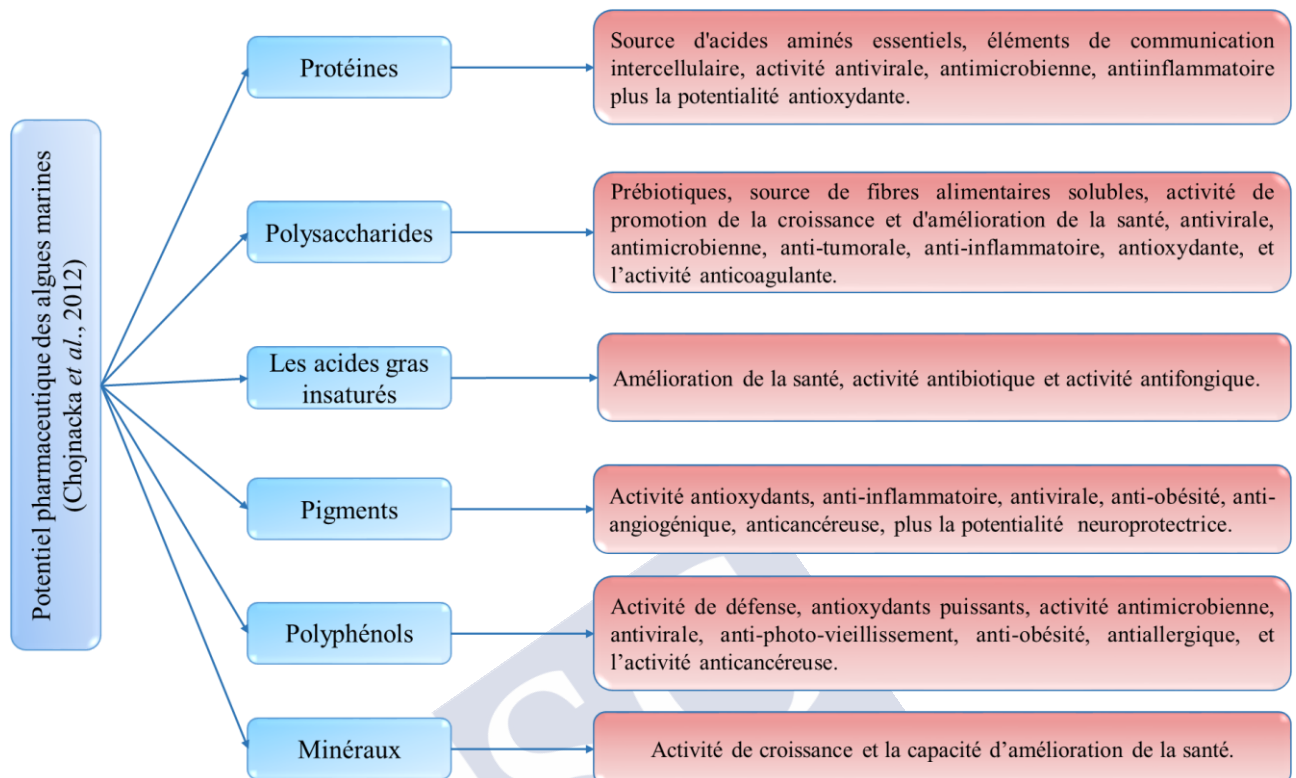


Figure 1.16. Les activités biologiques de macromolécules issues des algues marines (Réalisation, H. Moussa).

Les macroalgues contiennent des quantités importantes de protéines (Lourenço et al., 2002), qui sont des facteurs importants et essentiels pour établir la valeur nutritionnelle des aliments. Il a été rapporté que les algues rouges et vertes avaient des concentrations en protéines relativement élevées, comprises entre 10 et 30% de la matière sèche (Mabeau & Fleurence 1993; Burtin 2003). En revanche, chez les algues brunes, la teneur en protéines est généralement plus faible, variant entre 5 et 15% (Burtin 2003; Dawczynski et al., 2007). Quelques exceptions ont toutefois été signalées, telles que les teneurs en protéines chez *Fucus serratus* et *Undaria pinnatifida* qui ont été rapportées de 44% et 21,3% respectivement (Marsham et al., 2007; Mišurcová et al., 2012).

Les lipides jouent des rôles divers et critiques dans le métabolisme. La teneur en lipides des macroalgues ne représente que 1 à 5% de la matière sèche (Burtin 2003). La contribution de cette classe de molécules en tant que source d'énergie semble donc être limitée (Burtin 2003). Cependant, les Phaeophyceae telles que les *Cystoseira* font partie des algues à plus forte teneur en lipides, en particulier en acides gras polyinsaturés (AGPI), par rapport aux algues appartenant à d'autres phylums (Colombo et al., 2006; Pereira et al., 2012). Les AGPI

représentent près de la moitié de cette fraction lipidique, une quantité significative d'acides gras se présentant sous la forme d'acides gras «oméga-3» et «oméga-6», tels que l'eicosapentaénoïque (EPA) et d'acides arachidoniques (AA), respectivement (MacArtain *et al.*, 2007). Les AGPI régulent un large éventail de fonctions dans le corps, telles que la pression artérielle, la coagulation du sang, ainsi que le développement et le fonctionnement correct du cerveau et du système nerveux (Patterson *et al.*, 2012). En outre, les AGPI jouent un rôle dans la régulation des réponses inflammatoires par la production d'eicosanoïdes, qui sont des médiateurs inflammatoires connus (Calder 2006).

La concentration en glucides des macroalgues est considérée comme élevée. Cependant, la digestibilité de ces glucides est faible (Bocanegra *et al.*, 2009). Les polysaccharides standards dans les algues brunes sont la laminarine, la cellulose, les alginates, le mannitol et le fucoïdane. La plupart de ces polysaccharides ne sont pas digestibles par les sucs du tractus gastro-intestinal humain et peuvent donc être considérés comme des fibres alimentaires (Dawczynski *et al.*, 2007). Les polysaccharides de stockage tels que l'agar, les carraghénanes et les alginates sont les composants les plus exploités. Ces polysaccharides présentent des propriétés texturales et stabilisantes (MacArtain *et al.*, 2007). Ils sont donc utilisés dans les solutions aqueuses épaississantes, les gels, les films hydrosolubles et les stabilisants.

Les taux de cendres des macroalgues sont associés à la quantité d'éléments minéraux. Ils sont généralement élevés, en particulier par rapport à ceux des légumes terrestres. Les minéraux constituent un élément essentiel dans l'alimentation humaine, bien que plus de 95% de l'apport en minéraux provient des aliments. En outre, les minéraux jouent un rôle important dans le corps humain car ils sont des matériaux structurels pour la construction des tissus et des facteurs importants dans les réactions vitales, tels que les cofacteurs de nombreuses métalloenzymes. Les macroalgues sont reconnues comme une source importante de minéraux en raison de leur capacité à absorber les ions inorganiques de l'environnement, principalement le fer, le potassium, le calcium et le sodium (Misurcova *et al.*, 2011).

Les polyphénols sont des composés riches en électrons, qui peuvent intervenir avec des réactions de don d'électrons efficaces et produisent à leur tour des espèces radicalaires phénoxy comme intermédiaires en présence d'agents oxydants. Cette caractéristique des polyphénols est en fait une bonne cause pour le choix des antioxydants naturels (Thomas & Kim 2011). Les phlorotannins sont des polyphénols majoritaires présents dans les algues brunes, reconnus pour leurs capacités biologiques. Ces phlorotannins sont des composés phénoliques à base de phloroglucinol, biosynthétisés par la voie acétate-malonate, hautement

hydrophiles et d'une large gamme de tailles moléculaires (Target & Arnold 2001). Il s'agit des oligomères ou des polymères de phloroglucinol (1, 3, 5, 5-trihydroxybenzène), liés par des liaisons aryle-aryle (fucols), des liaisons éther (phloréthols, hydroxyphloréthols, fuhalols), ou les deux (fucophloréthols), ou avec une liaison dibenzodioxine (eckols et carmalols) (Balboa *et al.*, 2013). Plusieurs chercheurs ont montré que les phlorotannins dérivés d'algues brunes marines avaient de fortes activités antioxydantes contre les dommages causés par l'oxydation provoquée par les radicaux libres (Kang *et al.*, 2003, 2004; Heo *et al.*, 2005; Shibata *et al.*, 2008). En outre, il a été rapporté que certaines phlorotannines telles que le 7-phlorphloroeckol, le phlorofucofuroeckol A et le 6,6-bieckol montrent des activités inhibitrices contre les deux enzymes acétylcholinestérase et butyrylcholinestérase, suggérant la possibilité de prendre des phlorotannins comme complément alimentaire pour traiter des perturbations neurologiques tels que celui de la maladie d'Alzheimer (Yoon *et al.*, 2009).

Au cours de cette dernière décennie, les profils chimiques des algues ont démontré leur richesse en terpénoïdes, alcaloïdes, polyphénols, stéroïdes, pigments et polysaccharides. De même, certaines analyses biologiques ont montré que plusieurs de ces métabolites avaient des activités pharmacologiques prometteuses (Gouveia *et al.*, 2013a; Peng *et al.*, 2015; Cardoso *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2018). D'ailleurs, les macroalgues biosynthétisent un ensemble de métabolites secondaires (**Figure 1.17**) ayant des effets notamment antioxydants (Roohinejad *et al.*, 2017; Sonani *et al.*, 2017), anti-inflammatoires (Lee *et al.*, 2013; Fernando *et al.*, 2016), antimicrobiens (Pérez *et al.*, 2016; Shannon & Abu-Ghannam 2016; Roohinejad *et al.*, 2017), neuroprotecteurs (Pangestuti & Kim 2011) et à propriétés anticancéreuses (Folmer *et al.*, 2010; Murphy *et al.*, 2014; Hussain *et al.*, 2016; Ruan *et al.*, 2018; Alves *et al.*, 2018a,b).

Cependant, la majorité de ces nouveaux composés actifs sont isolés d'un nombre assez limité d'algues marines, comme celles du genre *Laurencia* (algues rouges) ainsi que les genres des algues brunes tels que *Dictyota*, *Sargassum* et *Cystoseira* qui attirent l'attention des investigateurs, malgré que leur potentiel en matière de découverte de médicaments reste largement inexploré. Néanmoins, de grands efforts ont été déployés au cours des dernières décennies pour étudier cette ressource.

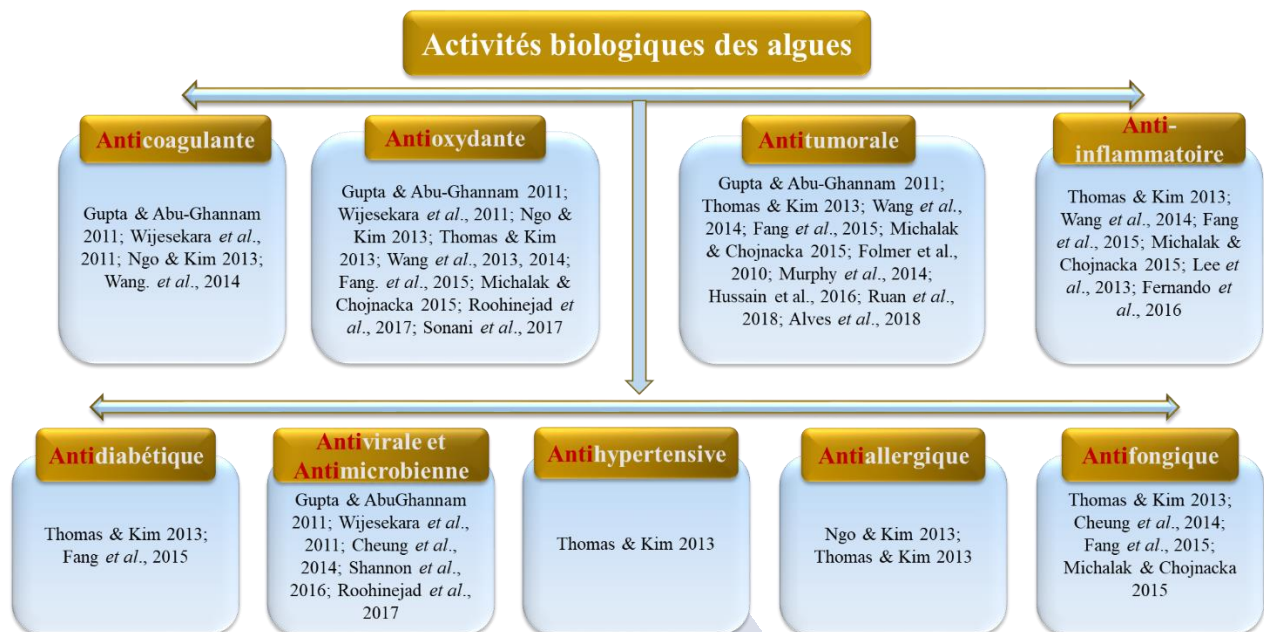


Figure 1.17. Les activités Biologiques des algues marines au cours des dix dernières années (Réalisation, H. Moussa).

1.4. Propriétés antioxydante et anticancéreuse des extraits et des composés isolés à partir des algues brunes

Les preuves accumulées au cours des deux dernières décennies suggèrent que la poursuite du stress oxydatif et des dommages oxydatifs peuvent conduire à une inflammation chronique, qui est associée à un risque accru de développement d'un cancer (Federico *et al.*, 2007; Reuter *et al.*, 2010).

1.4.1. Activité antioxydante

Récemment, les antioxydants ont attiré beaucoup d'attention, non seulement en tant qu'aliments fonctionnels, mais également en tant qu'agents biomédicaux afin de contrôler et de prévenir les maladies dans lesquelles des dommages oxydatifs ont été impliqués.

Un antioxydant est une substance capable d'empêcher ou de ralentir l'oxydation d'autres molécules (Flora 2009). L'oxydation est une réaction chimique pouvant produire des radicaux libres, conduisant à des réactions en chaîne pouvant endommager les cellules. Dans un organisme, l'oxydation peut causer un stress oxydatif, qui se produit suite à un déséquilibre entre la production et l'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules et les tissus et la capacité d'un système biologique à détoxifier facilement ces intermédiaires réactifs (Pizzino *et al.*, 2017). Ce type de stress est impliqué dans l'activation des facteurs de transcription multiples, qui conduisent à l'expression différentielle de plus de 500 gènes différents, y compris ceux des facteurs de croissance, des cytokines, des chimiokines, des

molécules régulatrices du cycle cellulaire et des molécules anti inflammatoires (Reuter *et al.*, 2010; Imbesi *et al.*, 2013). Ces médiateurs activent des mécanismes complexes et des voies de signalisation caractérisant l'inflammation (Federico *et al.*, 2007; Reuter *et al.*, 2010; Imbesi *et al.*, 2013). Le résultat final est généralement la génération de radicaux libres qui doivent être éliminés pour prévenir les dommages aux cellules. En effet, un radical libre est défini comme une espèce chimique capable d'exister de manière indépendante, ayant un ou plusieurs électrons non appariés. Ces électrons non appariés rendent les radicaux libres instables et hautement réactifs envers les autres substances et même envers eux-mêmes.

Les ROS (comprennent le superoxyde A, l'oxygène singulet b, l'hydroxyle C, le peroxyde K, l'oxyde nitrique (NO), etc.) sont produites en permanence lors du métabolisme cellulaire normal (Birben *et al.*, 2012), et peuvent initier la peroxydation des lipides membranaires, ce qui conduit à l'accumulation de peroxydes lipidiques (Gülçin 2010). Ces ROS jouent des rôles physiologiques importants, en particulier dans le maintien de l'homéostasie cellulaire et dans la régulation des fonctions telles que la prolifération, la transduction du signal, l'expression des gènes et l'activation des récepteurs (Dröge 2002). En plus des processus biologiques qui produisent des formes endogènes de ROS, l'organisme humain est également exposé aux ROS générées par l'exposition à des facteurs externes (exogène) (Figure 1.18) tels que les rayons ultraviolets et rayons X, fumée de tabac, certains polluants, produits chimiques comme les solvants organiques et les pesticides (Lobo *et al.*, 2010).

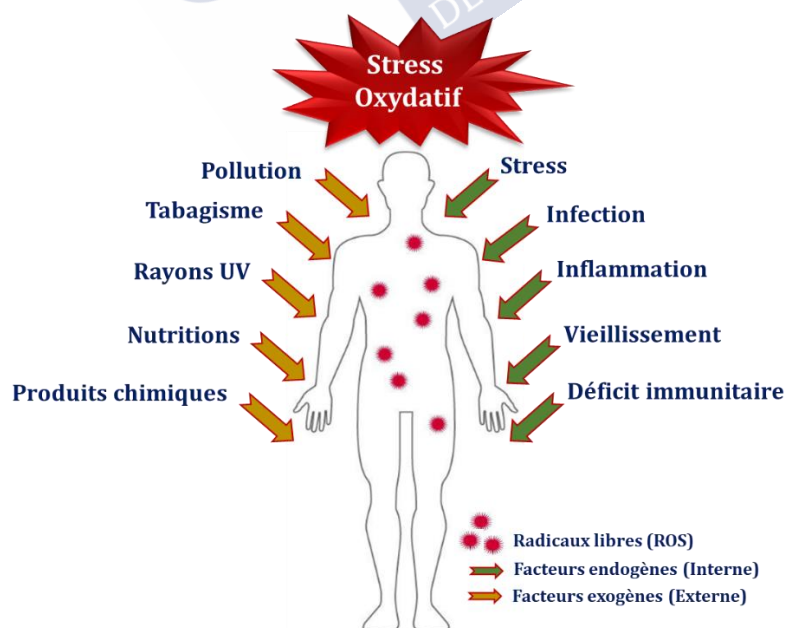


Figure 1.18. Les plus importants facteurs (endogènes et exogènes) qui favorisent la production des radicaux libre (ROS), menant à l'apparition de stress oxydatif (Réalisation, H. Moussa).

Lorsque la production de ROS dépasse les mécanismes de protection cellulaire (stress oxydatif), des niveaux excessifs de ROS peuvent endommager l'ADN, les lipides et les protéines (Wu *et al.*, 2013). D'ailleurs, la réaction des ROS avec les acides nucléiques des génomes nucléaire et mitochondrial peut entraîner des mutations et des nombreuses maladies (Figure 1.19), telles que l'athérosclérose, les maladies inflammatoires, les cancers, les maladies de la peau, y compris le vieillissement, les maladies ischémiques, le SIDA, l'emphysème, l'hémochromatose, les maladies cardiovasculaires, les troubles neurologiques, hépatotoxicité, asthme, ulcères gastrique et plein d'autres (Taylor & Turnbull 2005; Huamantupa *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2013; Hayyan *et al.*, 2016). Ces exemples montrent à quel point les radicaux libres sont dangereux et combien il est important de s'en protéger et de lutter contre eux. Néanmoins, ces déséquilibres peuvent être modifiés lorsque les niveaux des antioxydants sont augmentés.

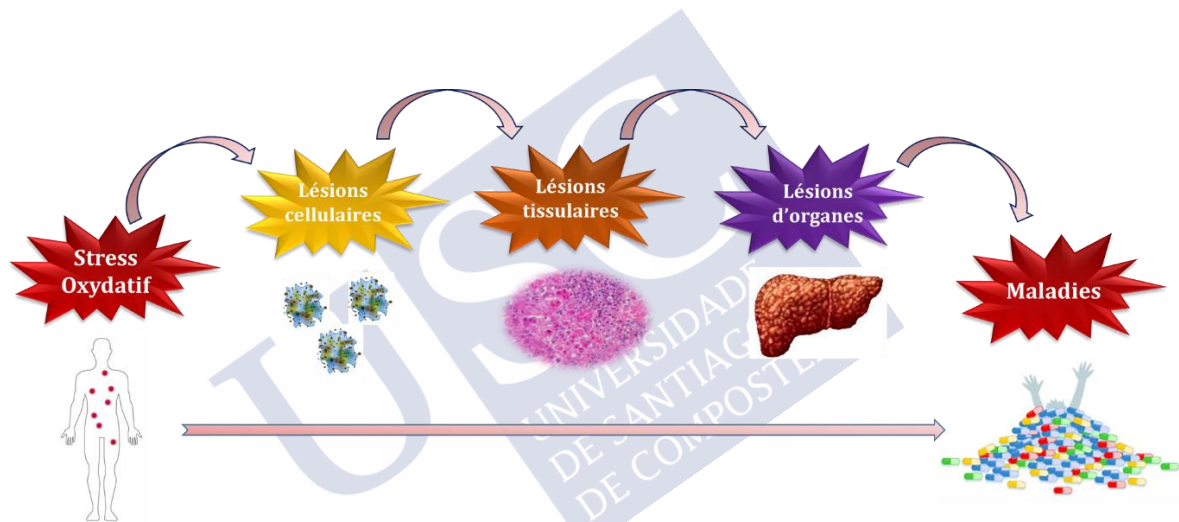


Figure 1.19. Les lésions cellulaires et tissulaires produites par le stress oxydatif sont responsables de plusieurs maladies (Réalisation, H. Moussa).

Les mécanismes physiologiques de la défense antioxydante comprennent des voies enzymatiques (enzymes qui réduisent la peroxydation lipidique) et non enzymatiques (par exemple, la glutathion, la L-arginine et le coenzyme Q) (López-Alarcón & Denicola 2013; Kumar & Pandey 2015). Outre ces antioxydants endogènes, une variété d'antioxydants exogènes peut être obtenue par le biais de compléments alimentaires et nutritionnels (par exemple, vitamines C et E, flavonoïdes et caroténoïdes) (Nimse & Palb 2015; Pizzino *et al.*, 2017).

Dans la production alimentaire, la protection contre l'oxydation est obligatoire pour assurer la valeur nutritionnelle et les propriétés organoleptiques telles que la saveur, l'odeur, la couleur et la texture. Toutefois, dans ces produits, l'autoxydation des lipides par des processus chimiques, thermiques, électromagnétiques et / ou enzymatiques est un événement fréquent

entraînant une augmentation des radicaux libres. Par exemple, les hydroperoxydes lipidiques sont instables et facilement convertis en produits d'oxydation secondaires (aldéhydes, cétones, alcools, hydrocarbures, etc.) qui affectent la qualité des aliments (Balboa *et al.*, 2013). Plusieurs antioxydants synthétiques comme l'exemple de l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT), le gallate de propyle (PG) et la tert-butylhydroquinone (TBHQ) ont été utilisés pour éviter l'oxydation des aliments et d'autres produits, bien qu'ils aient été associés à des effets secondaires indésirables tels que la toxicité et la cancérogénicité (Lanigan & Yamarik 2002). Par conséquent, les problèmes de sécurité ont entraîné un besoin croissant d'étudier et d'identifier d'autres sources d'antioxydants pouvant être utilisées dans l'industrie alimentaire (Cho *et al.*, 2011).

Actuellement, les extraits et les composés isolés des macroalgues dotés de propriétés antioxydantes font l'objet de recherches intensives en raison de la demande croissante d'agents antioxydants dans les industries alimentaire et pharmaceutique. Dans leur milieu naturel, les algues marines sont exposées à une combinaison de rayons ultraviolets (UV) et de facteurs de stress environnementaux (lumière intense et concentrations élevées en oxygène) qui conduit facilement à la formation de radicaux libres. Malgré leur exposition à des ROS nocives, les thalles des algues ne présentent pas de dommages oxydatifs dans leurs composants structuraux (par exemple, les acides gras), suggérant alors la présence de métabolites dotés de fonctions de défense antioxydantes protecteurs dans leurs cellules (vitamines, pigments et polyphénols) (Jiménez Escrig *et al.*, 2001). Dans cette ligne, il a été démontré que les extraits d'une grande variété de macroalgues et de certains composés purs possèdent des propriétés antioxydantes significatives dans différents tests (Balboa *et al.*, 2013; Farvin & Jacobsen 2013).

Les algues brunes sont souvent décrit dans la littérature en tant que source de composés antioxydants, en particulier de composés phénoliques. Elles représentent le plus grand nombre de familles de macroalgues riches en composés bioactifs aux propriétés antioxydantes, notamment les Sargassacées (Zubia *et al.*, 2009). Plusieurs extraits, fractions et composés ayant une activité antioxydante ont été isolés à partir d'algues brunes, dont la plupart appartiennent à la fraction phénolique (Balboa *et al.*, 2013). En ce qui concerne le genre *Cystoseira*, il a été identifié comme antioxydant l'extrait de dichlorométhane/méthanol (1: 1) de *C. tamariscifolia* (Zubia *et al.*, 2009), l'extrait aquatique supercritique de *C. abies-marina* (Plaza *et al.*, 2010), l'extrait de méthanol de *C. hakodatensis* (Airanthi *et al.*, 2011), l'extrait de chloroforme de *C. crinita* (Mhadhebi *et al.*, 2011), les dérivés de tétraprényltoluquinol de *C. crinita* (Fisch *et al.*, 2003) et l'extrait d'hexane de *C. compressa* (Güner *et al.*, 2015).

La plupart des composés naturels des Ochrophyta jouissant des propriétés antioxydantes sont les méroterpénoïdes. Notamment, les méroterpènes isolés de *Sargassum thunbergii* ont montré la capacité de piéger le radical libre de DPPH avec des valeurs de ED₅₀ comprises entre 20 et 38 µg/mL, similaires à celles des composés de référence BHT (42 µg/mL) et de l'α-tocophérol (23 µg/mL) (Seo *et al.*, 2007). L'analyse chimique de *S. siliquastrum* a conduit à l'isolement de 20 méroterpénoïdes, dont la plupart ont montré une activité de piégeage radicalaire dans le test DPPH (valeurs de EC₅₀ comprises entre 0,10 et 23,23 µg/mL) (Jung *et al.*, 2008). D'autres études sur cette espèce ont découvert de nouveaux composés montrant une activité antioxydante très remarquable (Cho *et al.*, 2008; Lee & Seo 2011).

Un autre groupe de composés phénoliques couramment trouvés dans les algues brunes sont les phlorotannins. L'activité antioxydante des extraits à phlorotannins a été prouvée par des essais *in vitro* (Nakamura *et al.*, 1996; Yoon *et al.*, 2011). De plus, des études récentes ont démontré que les phlorotannins provenant de Laminariaceae japonais jouent un rôle clé en tant qu'ingrédients bioactifs, exerçant un rôle vital dans les algues elles-mêmes, ainsi que dans la santé et la nutrition humaines (Shibata *et al.*, 2008). En outre, ces composés phénoliques ont été testés pour leurs propriétés biologiques. De nombreuses études décrivent le potentiel important des phlorotannins dans le traitement de nombreuses maladies associées au stress oxydatif, en particulier le cancer (Zenthofer *et al.*, 2017).

De toute façon, Les activités antioxydantes détectées chez les algues marines ont été associées à des effets anti-âge, anti-inflammatoires, antibactériens, antifongiques, cytotoxiques, antipaludiques, antiprolifératifs et anticancéreux potentiels (Cornish & Garbary 2010; Thomas & Kim 2011).

1.4.2. Activité anticancéreuse

L'équilibre entre la division et la mort cellulaire est une caractéristique fondamentale dans le développement et le maintien de l'homéostasie. Des perturbations dans cet équilibre peuvent provoquer plusieurs maladies. En effet, un dérèglement de cet équilibre vers un déficit de mortalité cellulaire est une condition préalable à l'émergence ou au développement du cancer.

Le cancer est une pathologie maligne, qui comporte trois phases distinctes mais interconnectées: l'initiation (cellule normale qui se transforme en cellule initiée), la promotion (cellule initiée qui devient une cellule précancéreuse), la progression (cellule précancéreuse qui devient une cellule cancéreuse) (Thangapazham *et al.*, 2006). L'invasion et la dissémination des cellules cancéreuses dans l'ensemble de l'organisme, aboutissant à la formation de métastases (Figure 1.20) cause la plus fréquente du décès des patients.

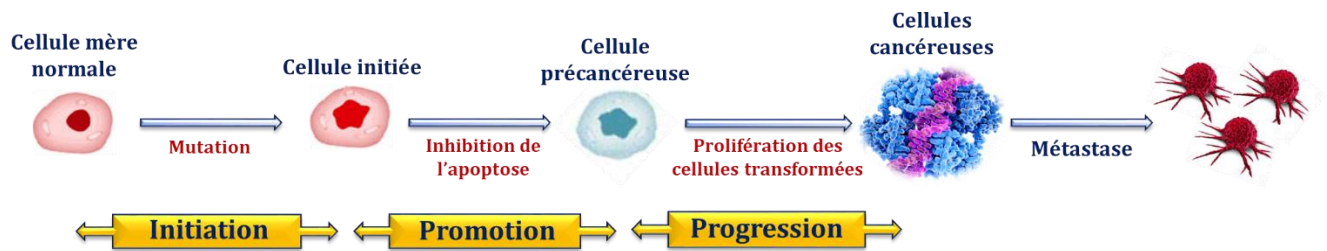


Figure 1.20. Représentation schématique des différentes étapes de la cancérogenèse (Réalisation, H. Moussa).

Le cancer est l'une des principales causes de mortalité dans le monde (Torre *et al.*, 2015). L'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer, a annoncé qu'en 2018, cette maladie influence sur la mortalité en Afrique et en Europe de 7,3% et 20% respectivement (IARC 2019).

Malgré les progrès thérapeutiques obtenus au cours des dernières décennies, une thérapie anticancéreuse pleinement efficace est encore loin d'être réalisée (Mullard 2015; Nicolini *et al.*, 2016). L'hétérogénéité du cancer (Lartigue 2018) et la résistance aux médicaments anticancéreux (Nikolaou *et al.*, 2018) constituent l'un des problèmes majeurs à résoudre. En fait, le traitement du cancer comprend généralement une combinaison de thérapies, en fonction des caractéristiques et du stade de la tumeur, incluant la chirurgie, la radio et/ou la chimiothérapie et, plus récemment, l'immunothérapie (Feinberg *et al.*, 2006; Sun 2017).

Actuellement, le développement des médicaments pour une cible spécifique liée au cancer, combiné à une compréhension efficace de la relation entre le médicament et la biologie de la tumeur humaine est devenu la clé dans la lutte contre le cancer (Senapati *et al.*, 2018). En bref, l'échec de divers types de traitements du cancer, y compris la chimiothérapie, à cause de leurs effets secondaires ou de la résistance aux médicaments, démontrent la grande nécessité et l'importance de la recherche de nouvelles molécules à activité anticancéreuse, plus efficaces et avec moins d'effets secondaires.

Les composés naturels, qui ont démontré un potentiel considérable dans le traitement du cancer, sont l'une des principales sources de ce type de médicaments (Cragg *et al.*, 2009; Cragg & Pezzuto 2016; Ruiz-Torres *et al.*, 2017; Seca & Pinto 2018). En fait, plus de 75% des principaux médicaments actuels (à l'exclusion des produits biologiques et des vaccins) développés entre 1930 et 2014 sont dérivés des produits naturels, y compris de plantes et des espèces marines. Parmi les 175 petites molécules approuvées pour traiter le cancer, 49% sont soit des composés naturels, soit directement dérivés de ceux-ci (Newman & Cragg 2016). Bien que les composés d'origine végétale aient traditionnellement joué un rôle majoritaire dans la découverte et le développement de médicaments anticancéreux (Seca & Pinto 2018),

récemment, les produits naturels marins ont également conduit à la mise au point de nouveaux médicaments anticancéreux et plusieurs composés font actuellement l'objet des essais cliniques (Ruiz-Torres *et al.*, 2017; Newman & Cragg 2014).

Les macroalgues marines contiennent une variété de composés aux propriétés antitumorales intéressantes, y compris les polysaccharides, les polyphénols et des petites molécules telles que les terpénoïdes et les stéroïdes, entre autres (Murphy *et al.*, 2014). Parmi ces algues, les Phaeophyceae ont été signalés comme possédant des propriétés bioactives, notamment des activités antiprolifératives (Dias *et al.*, 2012).

Plusieurs extraits bruts des algues brunes ont également présenté une activité antiproliférative. Par exemple, les fractions d'hexane de *Sargassum swartzii* et *Cystoseira myrica* ont montré une cytotoxicité sélective contre la prolifération des lignées cellulaires de Caco-2 (IC₅₀<100 µg/ml) et T47D (IC₅₀<100 µg/ml) (Khanavi *et al.*, 2010). Huang et collaborateurs (2005) ont démontré que l'extrait d'acétate d'éthyle de *Colpomenia sinuosa* inhibait la croissance des cellules de l'hépatome humain HuH-7, des cellules de leucémie U937 et HL-60 de manière dépendante du temps et de la dose.

Un dérivé du phloroglucinol, le dioxinodehydroeckol, isolé de *Ecklonia cava*, a inhibé la prolifération de cellules cancéreuses mammaires MCF-7 (Kong *et al.*, 2009). Le nouveau méroditerpène cystoazorol A, ainsi que les nouveaux méronorsesquiterpènes cystoazorones A et B, ont été isolés de *Cystoseira abies-marina* et testés pour leur cytotoxicité envers la tumeur (HeLa) et la lignée cellulaire non tumorales (Vero) (Gouveia *et al.*, 2013b).

On outre, nombreuses études ont été réalisées afin de prouver l'activité antiproliférative des terpènes issus des espèces d'algues brunes, tels que, l'Atomarianones A et B isolés de *Taonia atomaria* (Abatis *et al.*, 2005); le Dictyotalide A et B, le 4-acetoxydictyolactone et Nordictyotalide de *Dictyota dichotoma* (Ishitsuka *et al.*, 1988); le Terpenoïde C de *Styopodium zonale* (Dorta *et al.*, 2002); le 12-hydroxygeranylgeraniol de *Bifurcaria bifurcata* (Gulioli *et al.*, 2004). Ainsi que le Monoacétate de cystoséirol, le Dictyol F monoacétate, l'Acétate de dictyone et l'Isodictytriol monoacétate qui furent purifiés de *Cystoseira myrica* (Ayyad *et al.*, 2003).

Plus récemment, le dérivé du cystocétal méroditerpénoïde isolé de *Cystoseira tamariscifolia*, a révélé une inhibition significative des cellules cancéreuses HepG2 (IC₅₀ 14,77 µg / ml) et une activité moindre vis-à-vis des cellules non tumorales S17 (IC₅₀ 48,46 µg / ml) (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016b).

1.5. Les métabolites secondaires du genre *Cystoseira* et leurs activités pharmacologiques

Les algues brunes constituent le groupe d'algues marines le plus prometteur. Elles sont reconnues comme les principales sources de composés bioactifs (Andrade *et al.*, 2013). Les *Cystoseira* représentent l'un des genres marins les plus étudiés, tant du point de vue chimique que biologique. En raison de leurs faibles tolérances environnementales, les espèces de *Cystoseira* sont utilisées comme indicateur de la qualité de l'eau dans la directive-cadre européenne sur l'eau (2000/60/CE) (Ballesteros *et al.*, 2007).

La phytochimie des espèces du genre *Cystoseira* a été étudiée depuis 1975 (Glombitza *et al.*, 1975), permettant d'isoler et de caractériser la structure d'un grand nombre de nouveaux produits naturels. En effet, plus de 200 composés ont été isolés et identifiés (Bruno de Sousa *et al.*, 2017b). Ces composés appartiennent à différentes catégories de métabolites bioactifs (Tableau 1.3), tels que les terpénoïdes, les méroterpénoïdes, les lipides (acides gras, les triacylglycérols), les stéroïdes, les phlorotannins, les composés phénoliques, les glucides, les pigments et les vitamines (Ayyad *et al.*, 2003; Ozdemir *et al.*, 2006; De Los Reyes *et al.*, 2013; Panayotova & Stancheva 2013; Stiger-Pouvreau *et al.*, 2014; Ragonese *et al.*, 2014; Hadj Ammar *et al.*, 2015; Vizetto-Duarte *et al.*, 2015).

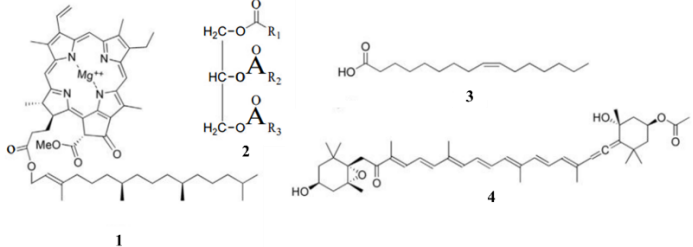
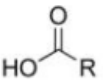
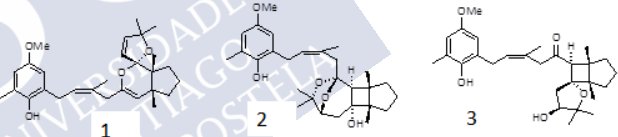
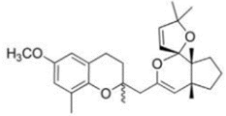
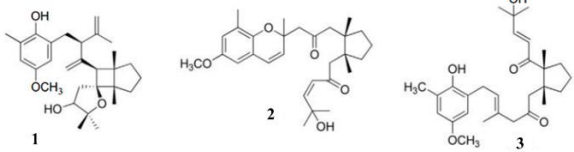
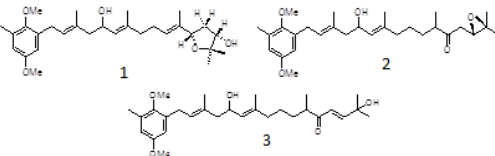
Par ailleurs, les composés naturels de *Cystoseira* ont fait l'objet de nombreuses études sur l'activité pharmacologique, notamment: l'activité antioxydante (Ferrerres *et al.*, 2012; De Los Reyes *et al.*, 2016), cytotoxique (Hamdy *et al.*, 2009; Gouveia *et al.*, 2013b), anti-inflammatoire (De Los Reyes *et al.*, 2013; Hadj Ammar *et al.*, 2015; Zbakh *et al.*, 2016), anticancéreuse (Lee *et al.*, 2013), antiproliférative (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a,b), inhibition de la cholinestérase (Andrade *et al.*, 2013), antidiabétique (Vizetto-Duarte *et al.*, 2015), et des propriétés anti-herpétiques (Mandal *et al.*, 2007). De plus, les activités antibactériennes, antifouling, antifongiques et antiparasitaires leurs été également attribuées (Bennamara *et al.*, 1999; Bruno de Sousa *et al.*, 2017a).

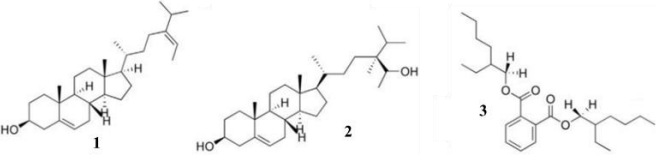
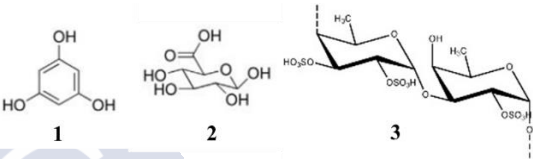
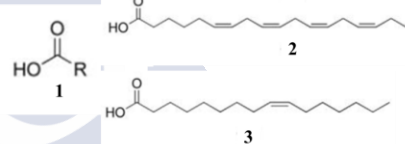
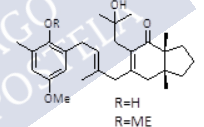
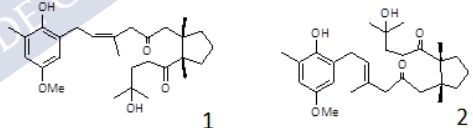
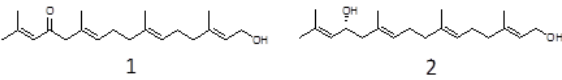
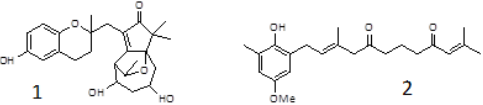
Les terpènes (particulièrement les diterpènes et les méroterpènes) ainsi que les phlorotannins sont les composés les plus métabolisés par les espèces de *Cystoseira*. En outre, il a été démontré que quelques terpènes des algues du genre *Cystoseira* possèdent une activité cytotoxique *in vitro*, soit en utilisant le dosage des œufs d'oursins fécondés (Francisco *et al.*, 1986; Fadli *et al.*, 1991a,b; Mesguiche *et al.*, 1997) ou en utilisant des lignées de cellules tumorales (Urones *et al.*, 1992a,b; Norte *et al.*, 1993; Gouveia *et al.*, 2013b). Quelques autres

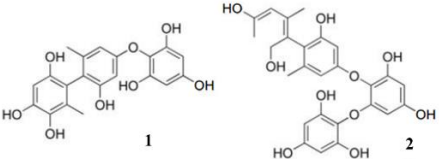
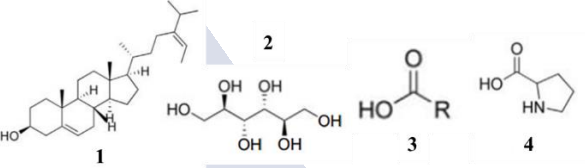
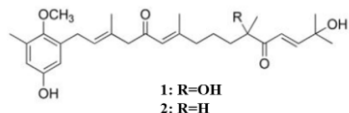
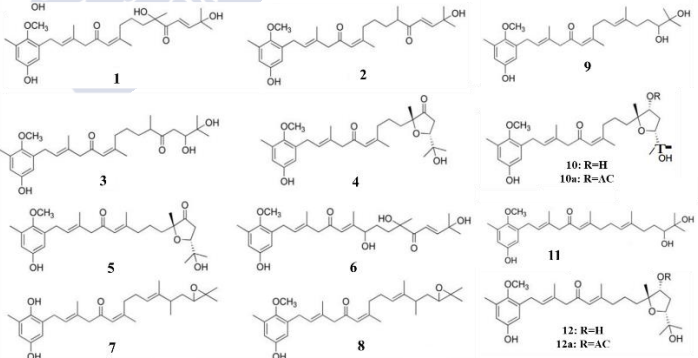
composés se sont également avérés posséder des propriétés antimicrobiennes ([Amico *et al.*, 1988a](#); [Bennamara *et al.*, 1999](#)), antivirales ([Urones *et al.*, 1992a,b](#)) ou antioxydantes ([Foti *et al.*, 1994](#); [Fisch *et al.*, 2003](#)). Ces données suggèrent que les terpènes produits par les cystoseires possèdent un grand potentiel biomédical qui reste presque inexploré.

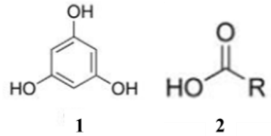
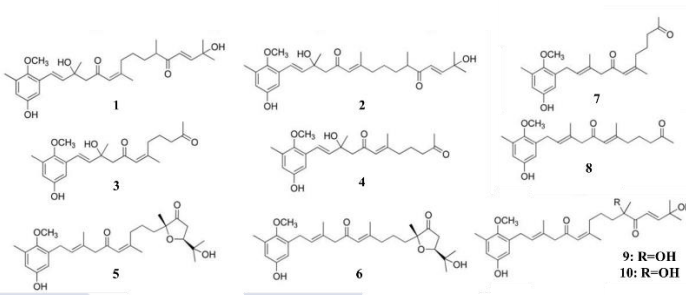
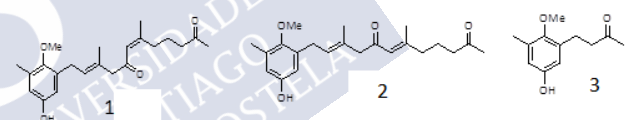
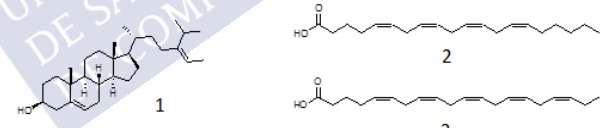
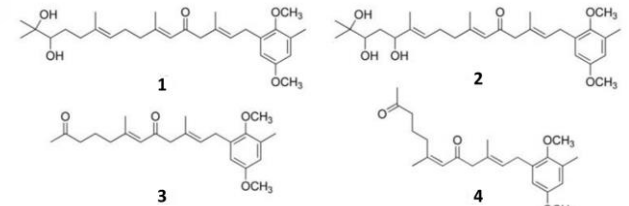
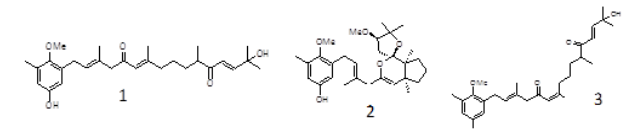


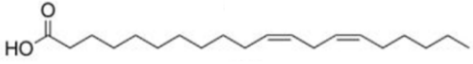
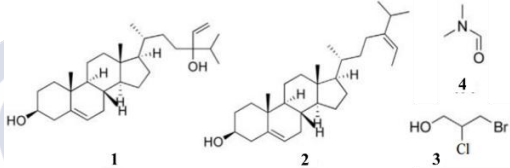
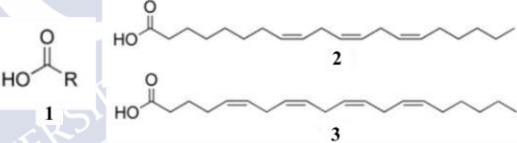
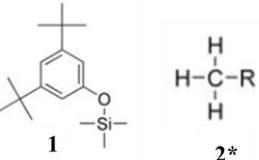
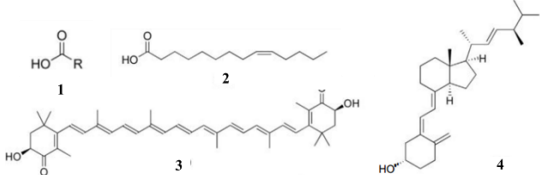
Tableau 2.3. Quelques métabolites secondaires des différentes espèces de Sargassaceae ¹

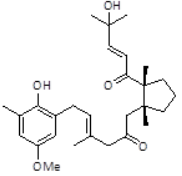
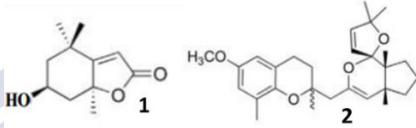
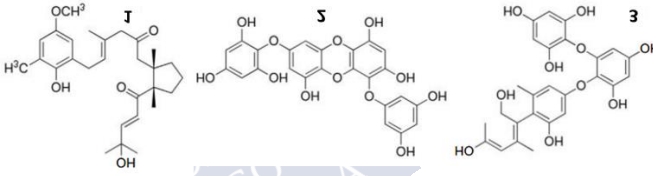
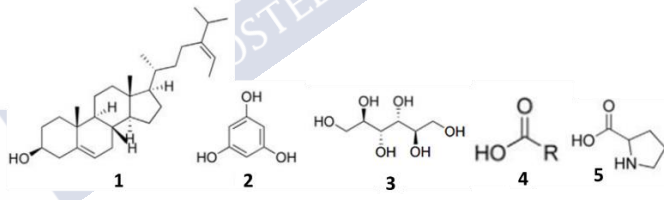
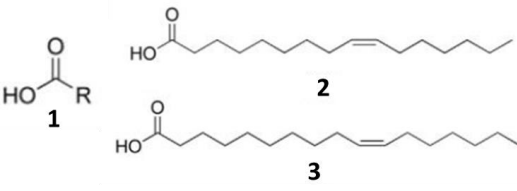
Espèces	Composés	Structures	Références
<i>Carpodesmia brachycarpa</i> (= <i>Cystoseira brachycarpa</i>)	Chlorophylle a, Triacylglycérols, Acide palmitoléique, Fucoxanthine		Ragonese <i>et al.</i> , 2014
	Acide myristique, Acide palmitique, Acide Margaric		Ragonese <i>et al.</i> , 2014; Vizetto- Duarte <i>et al.</i> , 2015
<i>Cystoseira amentacea var.</i> <i>stricta</i> (= <i>Cystoseira stricta</i>)	Isocystoketal, isostrictaketal et isobalearone		Amico <i>et al.</i> , 1987
	Déméthoxy cystokétal chromane		Vizetto-Duarte <i>et al.</i> , 2016b
	2,12-Diepineaobalearone, 4'- méthoxy- (2 E) ~ bifurcarénone, Méthoxybifurcarénone		Mesguiche <i>et al.</i> , 1997
<i>Carpodesmia zosteroides</i> (= <i>Cystoseira zosteroides</i>)	Zosterdiol A, zosteronol, zosterondiol A		Amico <i>et al.</i> , 1988c

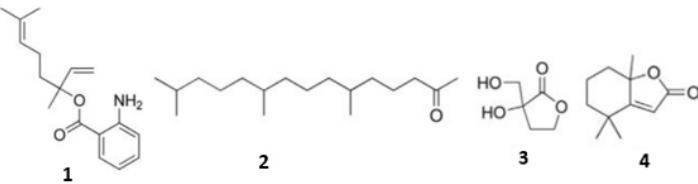
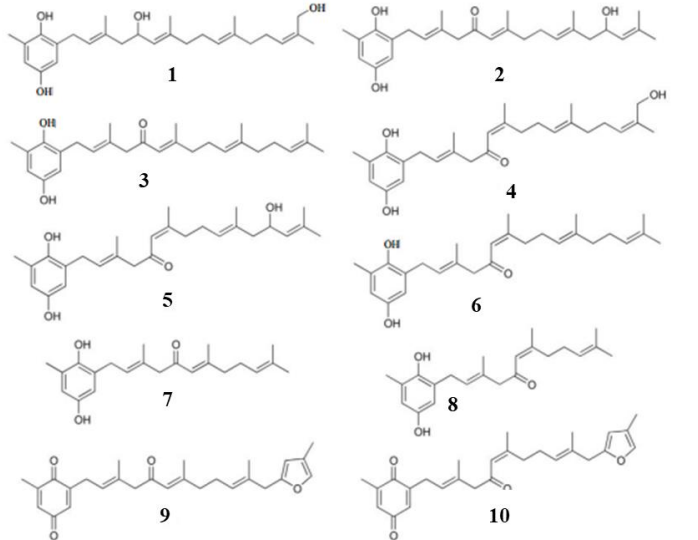
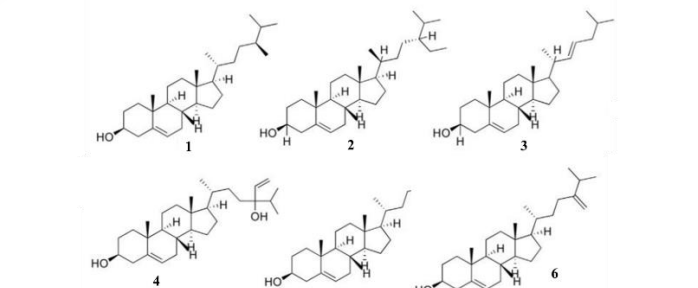
<i>Cystoseira compressa</i>	Fucostérol, Saoussazine, Phtalate de bis (2-éthylhexyle)		Mighri <i>et al.</i> , 2009
	Phloroglucinol, Acide uronique, Fucoidans		Chkhikvishvili & Ramazanov 2000; Ammar <i>et al.</i> , 2015
	Acide palmitique, Acide stéaridonique, Acide palmitoléique		Kanias <i>et al.</i> , 1992; Ragonese <i>et al.</i> , 2014; Vizetto-Duarte <i>et al.</i> , 2015
<i>Cystoseira algeriensis</i>	Cystalgerone		Amico <i>et al.</i> , 1984
<i>Treptacantha elegans</i> (= <i>Cystoseira elegans</i>)	Deux nouveaux tetraprenil-toluquinol		Amico <i>et al.</i> , 1988b
<i>Carpodesmia brachycarpa</i> (= <i>Cystoseira balearica</i>)	Eleganolone, Elegandiol		Della Pietá <i>et al.</i> , 1993
<i>Carpodesmia mediterranea</i> (= <i>Cystoseira mediterranea</i>)	Méditerranéol et Méditerranone		Fadli <i>et al.</i> , 1991a,b

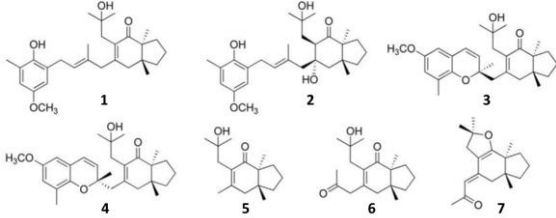
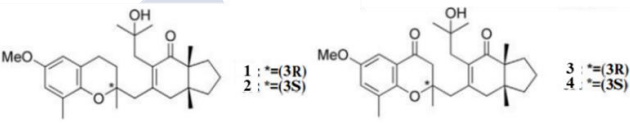
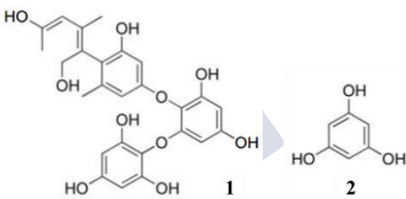
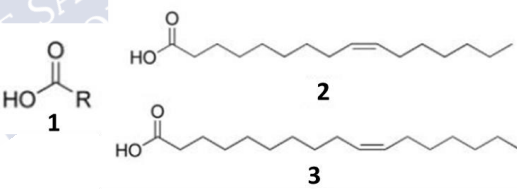
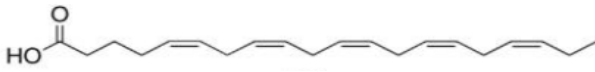
Espèces	Composés	Structures	Références
<i>Cystoseira usneoides</i>	Fucophloroethol, Fucotriphloroethol		Ferreres <i>et al.</i> , 2012
	Fucostérol, Mannitol, Acide stéarique, Proline		Andrade <i>et al.</i> , 2013
	Usneidone E, Amentadione-1'-méthyléther	 <p>1: R=OH 2: R=H</p>	De los reyes <i>et al.</i> , 2013, 2016
	Cystodione G, Cystodione H, Cystodione I, Cystodione J, Cystodione L, Cystodione M, Cystone A, Cystone B, Cystone C, Cystone D, Cystone E, Cystone F	 <p>10: R=H 10a: R=AC 12: R=H 12a: R=AC</p>	De los reyes <i>et al.</i> , 2016

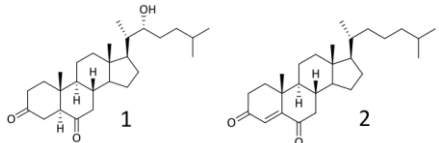
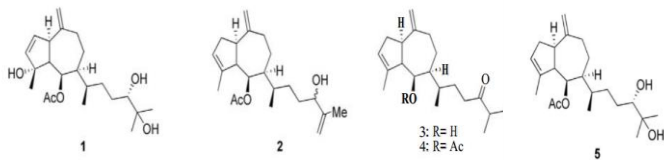
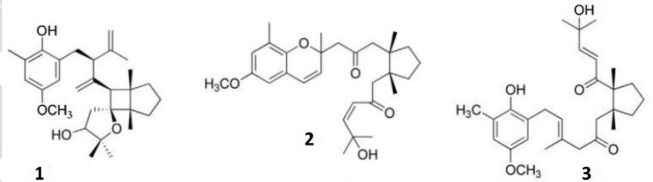
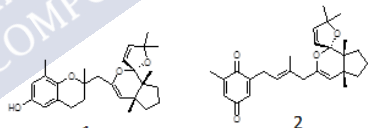
	<p>Phloroglucinol, Acide Margarique</p>		<p>Andrade <i>et al.</i>, 2013; Stiger-Pouvreau <i>et al.</i>, 2014; Vizetto-Duarte <i>et al.</i>, 2015</p>
	<p>Cystodione A, Cystodione B, Cystodione C, Cystodione D, Cystodione E, Cystodione F. Cystomexicone A, Cystomexicone B, Usneidone Z, 6-cis-Amentadione-1'-méthyléther</p>		<p>De los Reyes <i>et al.</i>, 2013</p>
<p><i>Treptacantha abies-marina</i> (= <i>Cystoseira abies-marina</i>)</p>	<p>Cystomexicone A, Cystomexicone B, Cétone</p>		<p>Fisch <i>et al.</i>, 2003; Fernández <i>et al.</i>, 2006</p>
	<p>Fucostérole et Eicosapentaénoïques</p>		<p>Fernández <i>et al.</i>, 2006</p>
	<p>Cystoazorol A et B, Cystoazorone A et B, acide benzoïque</p>		<p>Gouveia <i>et al.</i>, 2013b</p>
	<p>1'-métoxiamentadione, 1',14-dimétoxiamentole et (6Z)-1'-métoxiamentadione</p>		<p>Amico 1995</p>

Espèces	Composés	Structures	Références
<i>Cystoseira barbata</i>	Acide éicosadiénoïque		Kanias <i>et al.</i> , 1992; Vizetto-Duarte <i>et al.</i> , 2015
	Saringastérol, Fucostérol, 3-bromo-2-chloro-1-propanol, 1-bromo-2-chloroéthane		Milkova <i>et al.</i> , 1997
	Acide pentadécyclique, Acide éicosatriénoïque, Acide arachidonique		Vizetto-Duarte <i>et al.</i> , 2015
	2,4-bis (1,1-diméthyléthyl) phénol, Heptane, Octane, Undécane, Tridécane, Tétradécane, Pentadécane		Ozdemir <i>et al.</i> , 2006
	Acide caproïque, Acide myristoléique, Astaxanthine, Ergocalciférol		Panayotova & Stancheva 2013

<p><i>Carpodesmia tamariscifolia</i> (= <i>Cystoseira tamariscifolia</i>)</p>	<p>2.12-diepineobalearone</p>		<p>Mesguiche <i>et al.</i>, 1997; Bennamara <i>et al.</i>, 1999</p>
	<p>Isololiolide, Déméthoxy cystokétal chromane</p>		<p>Vizetto-Duarte <i>et al.</i>, 2016a,b</p>
	<p>Methoxybifurcarenone, 7-phloroethol, Fucodiphloroethol</p>		<p>Bennamara <i>et al.</i>, 1999; Ferreres <i>et al.</i>, 2012</p>
	<p>Fucostérol, Phloroglucinol, Mannitol, l'acide palmitique et l'acide stéarique, plus Proline</p>		<p>Andrade <i>et al.</i>, 2013</p>
	<p>Acide myristique, Ac pentadécyclique, Ac margarique, Ac arachidique, Ac béhénique, Ac lignocérique, Ac palmitoléique, Ac oléique,...</p>		<p>Vizetto-Duarte <i>et al.</i>, 2015</p>

Espèces	Composés	Structures	Références
<p><i>Carpodesmia crinita</i> (= <i>Cystoseira crinita</i>)</p>	<p>3,7-diméthyl-1, 6-octadiène-3-ol-2-aminobenzoate, hexahydrofarnésylacétone, dihydroactinidiolide, plus des composés stéroïdiens</p>		<p>Milkova <i>et al.</i>, 1997; Kamenarska <i>et al.</i>, 2002</p>
	<p>10 Composés Meroterpenoids</p>		<p>Fisch <i>et al.</i>, 2003</p>
<p><i>Cystoseira montagnei</i> (= <i>Cystoseira adriatica</i>)</p>	<p>Ergost-5-en-3 (3-ol, Stigmast-5-en-3 (3-ol, 22-déhydrocholestérol, Saringastérol, Fucostérol, Chalinasterol,</p>		<p>Kapetanovic <i>et al.</i>, 2005</p>

<i>Cystoseira baccata</i>	Méroditerpénoïdes 1,2,3,4,5,6,7		Mokrini <i>et al.</i> , 2008
	(3R) -Tétraprényltoluquinone (3S) -Tétraprényltoluquinone (3R) -Tétraprényltoluquinol (3S) -Tétraprényltoluquinol		Bruno de Sousa <i>et al.</i> , 2017a
	Fucophloroetho, Phloroglucinol		Stiger-Pouvreau <i>et al.</i> , 2014
	Acide myristique, Ac pentadécyclique, Ac palmitique, Ac Margarique, Ac stéarique, Ac arachidique, Ac béhénique, lignocérique, Ac palmitoléique, Ac oléique,...		Vizetto-Duarte <i>et al.</i> , 2015
	Acide eicosapentaénoïque (C20: 5)		Ward & Singh 2005

Espèces	Composés	Structures	Références
<i>Polycladia myrica</i> (= <i>Cystoseira myrica</i>)	3-Céto-22-épi-28-nor-cathasterone et le cholest-4-ène-3,6-dione (Stérols)		Hamdy <i>et al.</i>, 2009
	Monoacétate de cystoséirol, monoacétate de Dictyol F, dictyone, acétate de dictyone, monoacétate d'isodictytriol, pachydictyols		Ayyad <i>et al.</i>, 2003
<i>Cystoseira amentacea var. stricta</i>	2,12-Diepineobalearone, 4'-Méthoxy-(2E)-bifurcarénone, Méthoxybifurcarénone.		Mesguiche <i>et al.</i>, 1997
	Méroditerpènes		Valls <i>et al.</i>, 1996

1- Ce tableau a pour but de d'exposer quelques exemples de la diversité chimique des composés présents dans les espèces de *Cystoeira* et ne constituer pas une liste complète de ce qui a été publié dans la littérature.

1.6. Diversité et valorisation des algues marines au Maroc

Le Maroc est un pays Nord Africain bordé par deux façades maritimes, disposant d'un vaste littoral de plus de 3500 km de longueur. Il a une position géographique particulière et privilégiée entre la mer Méditerranée et l'océan Atlantique, séparé par le détroit de Gibraltar. Par conséquent, ses côtes étaient depuis toujours un domaine attractif pour la recherche marine.

L'étude de la diversité algale sur les côtes marocaines remonte à la fin du 19^{ème} et au début du 20^{ème} siècle. Bornet (1892) a été le premier qui a signalé les plantes marines du Maroc, lorsqu'il a révisé et publié les travaux du botaniste danois P.K.-A. Schousboe sur la côte de Tanger entre 1815 et 1829. Cet ouvrage présente avec celui de Debray (1897) le premier aperçu sur la flore algale du Maroc.

Par la suite, ces deux études ont été suivies par un certain nombre d'investigations, dont on cite: Foslie (1897, 1904, 1907, 1909) qui s'est concentré sur les corallinacées; Hariot (1909) sur la côte marocaine en général; De Buen (1913) qui s'est intéressé aux Fucaceae du Déroit de Gibraltar; Sauvageau (1913) qui a travaillé sur les Fucales et Laminariales de la côte méditerranéenne; Lemoine (1924, 1926) qui a étudié les corallinacées du Maroc; plus le travail de Gattefosse & Werner (1935).

Au milieu du 20^{ème} siècle, la côte marocaine a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs et les publications ultérieures sur les algues marocaines ont connu une augmentation significative, tels que les travaux de Dangeard (1937, 1939, 1948, 1949, 1959); Feldmann (1953, 1955); Werner (1956) qui a présenté quelques réflexions sur la structure et la zonation des communautés algales sur la côte marocaine; Gayral & Cauro (1958); Gayral (1957, 1958, 1961); Gayral & Seizilles de Mazancourt (1961).

Vers la fin du 20^{ème} siècle; Kazzaz (1989), Gonzalez & Conde (1991, 1994, 1995), dont les études ont porté principalement sur la côte méditerranéenne; Benhissoune (1995) qui a étudié la phycoflore benthique de la région de Rabat-Mohammedia; plus l'inventaire de Riadi & Kazzaz (1998).

Au début du 21^{ème} siècle, le nombre des travaux restent limiter à ceux de: Kazzaz & Riadi (2000); Riadi *et al.*, (2000); Riadi (2000); Benhissoune *et al.*, (2001; 2002a,b; 2003); Kazzaz (2003). Récemment, les efforts combinés des chercheurs phycologues locaux ont permis de générer un nombre important de nouvelles citations sur les algues provenant des côtes marocaines, avec l'annonce de nouvelles espèces pour la flore marine méditerranéenne

(Riadi *et al.*, 2011, 2013; Moussa *et al.*, 2015, 2018; Hassoun *et al.*, 2014, 2015, 2016 a,b, 2018a, b; Salhi *et al.*, 2019) (Figure 1.21)

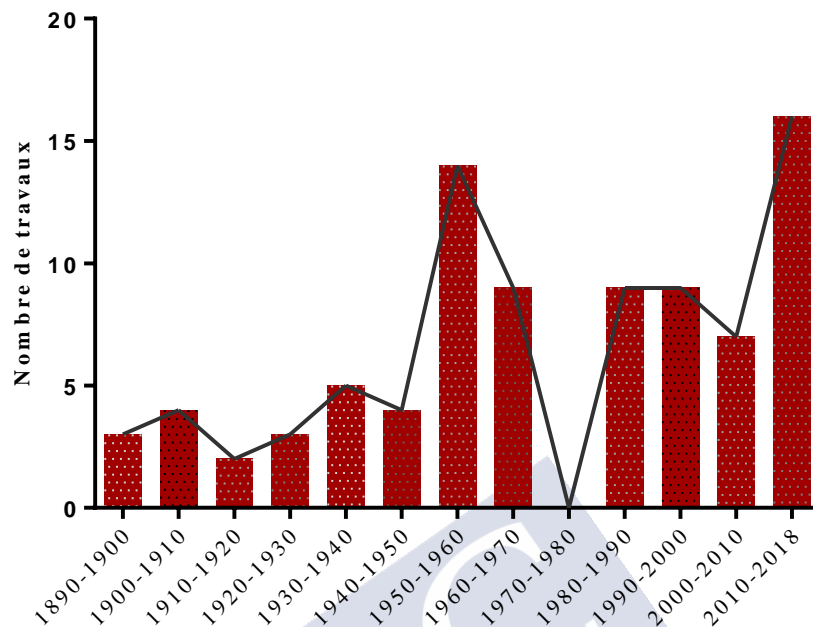


Figure 1.21. Nombre de publications sur les algues marines du Maroc (Hassoun 2018).

Malgré cette apparente augmentation de l'activité phycologique au Maroc, si on considère l'immensité de la zone géographique concernée et de la diversité des biotopes disponibles, la côte marocaine reste peu étudiée par rapport aux autres régions biogéographiques (Figure 1.22).

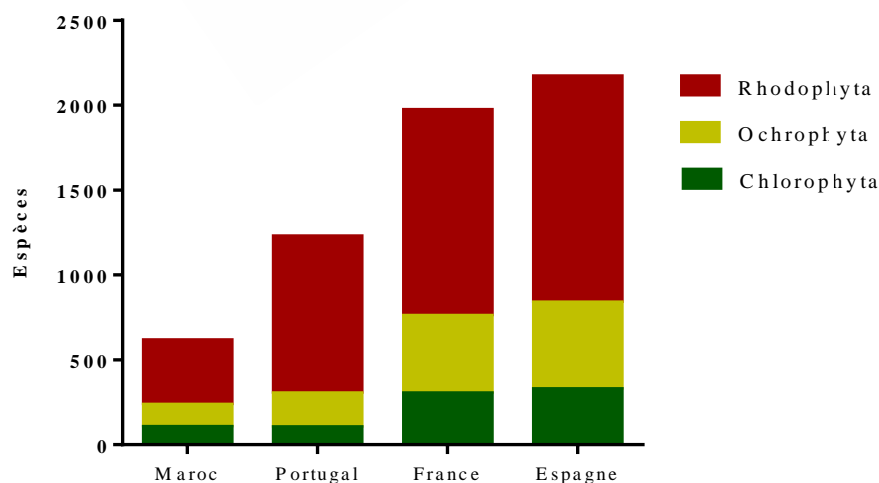


Figure 1.22. Nombre d'espèces d'algues répertoriées au Maroc par rapport aux pays voisins (Hassoun 2018).

Pour le Maroc, les données floristiques sont issues principalement de l'inventaire réalisé par Riadi & Kazzaz (1998), Kazzaz & Riadi (2000) et des checklists de Benhissoune *et al.*, (2001-2003), alors que celles des pays voisins, elles proviennent de l'Algaebase (Guiry & Guiry 2019). Notons que les nouvelles confirmations effectuées par l'équipe de notre laboratoire ne sont pas incluses.

La majorité des travaux qui ont contribué à la connaissance des algues marines du Maroc sont principalement sous forme de listes d'espèces (par exemple, Riadi & Kazzaz 1998; Kazzaz & Riadi 2000; Riadi *et al.* 2000; Benhissoune *et al.* 2001, 2002a,b, 2003), sans apporter aucune description ou illustration morphologique.

Au vu de tous les travaux antérieurs, il est clairement démontré que la région de Rabat-Mohammedia a toujours été la région la plus étudiée de manière approfondie. L'analyse des données bibliographiques montre qu'au moins un tiers des publications sur la flore algale marine de la côte Atlantique marocaine sont consacrées à cette région ou à ses environs, bien que d'autres territoires ne soient pas encore explorés.

En réalité les travaux de recherche sur la phycoflore de la côte méditerranéenne marocaine ont commencé bien tardivement par rapport au littoral Atlantique. Par conséquent, la connaissance de sa diversité macroalgale reste limitée à un bref historique des recherches, que outre ceux de Kazzaz et Riadi, nous citons certains auteurs espagnols tels que, Condé-Poyales 1984, 1989; Navarro & Gallardo 1989; González-García & Condé-Poyales 1991, 1994; González García 1994; Bueno del Campo & González García 1996; Flores Moya & Conde-Poyales 1998.

La flore algale est une source riche en composés fonctionnels et en molécules bioactives prometteuses pour une vaste gamme d'applications, y compris non seulement de nouvelles thérapies, mais également des produits cosmétiques et de base pour la biotechnologie principalement dans le domaine pharmaco-médical. Cette valeur ajoutée a activé la recherche de nouveaux agents alimentaires et thérapeutiques à partir de macroalgues a suscité un grand intérêt parmi les groupes scientifiques.

Généralement, au Maroc, les recherches portant sur la bipotentialité des macroalgues restent insuffisamment exploitées par rapport à la grande richesse algale qui a été offerte par les deux façades maritimes marocaines (Abourriche *et al.*, 1999; Souhaili *et al.*, 2004, 2008; Chiheb *et al.*, 2009, 2010; Chiheb 2010; Bouhlal 2010; Bouhlal *et al.*, 2010a,b, 2011, 2013; Zbakh 2014; Zbakh *et al.*, 2012, 2014a,b,c, 2016; El Atouani *et al.*, 2016; Belattmania *et al.*, 2016a,b; Ainane *et al.*, 2014a,b, 2015, 2018; Salhi *et al.*, 2018).

1.7. Objectifs et contexte scientifique de l'étude

Le Maroc est signataire de plusieurs conventions, dont celle du Sommet de Rio de Janeiro 1992. Lors de ce sommet, une prise de conscience notable des questions concernant l'environnement et le développement, tant au niveau des décideurs politiques économiques qu'au niveau des Organisations Non Gouvernementales et des populations. Cette prise de conscience s'est traduite notamment par la signature de la Convention sur la diversité biologique qui a pour finalité le développement durable des pays dans le cadre d'une gestion rationnelle des ressources naturelles.

Dans le même sillage, une stratégie nationale de création des parcs nationaux et des aires protégées a été entamée pour stopper la perte de biodiversité en protégeant de nouveaux habitats des espèces.

Parmi les dix parcs nationaux créés au Maroc, le Parc National d'Al-Hoceima (PNAH) est considéré comme le seul parc couvrant une côte de 40 km sur le littoral Méditerranéen. En raison de sa position géographique stratégique et de sa biodiversité importante, comparable aux principaux points chauds de la Méditerranée, le programme des Nations Unies pour l'environnement (UNEP) a classé le PNAH en 2009 en tant qu'aire spécialement protégée d'importance méditerranéenne (ASPIM) (PNUE-PAMCAR/ASP 2009). Ainsi, la Méditerranée s'est dotée d'une nouvelle ASPIM qui venait d'enrichir la liste des sites existants.

Malgré toutes ses particularités, la flore des algues marines du PNAH reste très peu étudiée et la majorité des sites ne sont pas encore explorés, en effet, il n'existe aucune liste exhaustive des algues marines répertoriées dans cette zone ASPIM.

La phycoflore marine du parc est outre qu'elle est à la base de la chaîne trophique comme producteur primaire, certaines de ses espèces produisent une vaste gamme de métabolites secondaires susceptibles d'avoir des activités biologiques spécifiques. La côte Méditerranéenne du Maroc abrite plusieurs espèces d'algues brunes, parmi lesquelles *C. teramiscifolia* est l'une des espèces les plus abondantes tout au long du Parc.

Tenant en compte toutes les études réalisées sur cette espèce, elle s'est révélée être une source précieuse de composés structurellement diversifiés présentant plusieurs activités biologiques, notamment des propriétés antioxydantes et cytotoxiques. Cependant, une étude chimique et pharmacologique de *C. tamariscifolia* de la Méditerranée marocaine n'avait pas encore été réalisée.

Dans ce contexte, les recherches menées dans la réalisation de cette thèse ont abordés plusieurs questions systématiques et pharmaco-chimiques, en visant deux objectifs principaux:

Le premier objectif est l'élaboration d'une checklist des algues marines du PNAH.

- ✓ Quel est l'effectif total des espèces d'algues marines qu'abrite le PNAH?
- ✓ Quelle est la composition de cette diversité algale? le nombre de classes, familles, genres ?
- ✓ Sont-elles des espèces nouvellement signalées pour le Maroc?
- ✓ Sont-elles des algues identifiées pour la première fois dans toute la Méditerranée ?

Le deuxième objectif est d'obtenir un nombre élevé de fractions de *C. tamariscifolia* du PNAH (Méditerranée du Maroc) et d'étudier leurs potentialités biologiques.

- ✓ L'extraction des spécimens de *C. tamariscifolia* présente t-elle une variabilité des fractions en fonction de la polarité du solvant?
- ✓ Quel est leurs profils en contenu phénolique?
- ✓ Ces fractions présentent-elles une activité antioxydante?
- ✓ Ont-elles un potentiel cytotoxique?
- ✓ Si elles possèdent ces activités, existe-t-il une corrélation entre leurs contenus phénoliques et leurs effets antioxydants et cytotoxiques?
- ✓ Les fractions de *C. tamariscifolia* peuvent-elles générer le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)?
- ✓ Si oui, les fractions qui génèrent H_2O_2 sont les mêmes qui produisent la cytotoxicité dans les cellules cancéreuses?
- ✓ En utilisant la chromatographie de masse, existe-t-il des composés précédemment isolés de *C. tamariscifolia* dans notre fractions?

Collectivement, avec les résultats attendus suit aux travaux de cette thèse, nous visons d'une part améliorer les connaissances sur la phycolophlore nationale et d'enrichir la liste de la flore algale du Maroc et de la Méditerranée, et d'autre part, valoriser la bipotentialité de l'espèce *C. tamariscifolia* de la côte méditerranéenne marocaine pour qu'elle soit utilisée comme aliment, comme partie d'un produit alimentaire et/ou comme source de nouveaux médicaments pour l'industrie pharmaceutique.

1.8. Références

- Abatis, D., Vagias, C., Galanakis, D., Norris, J.N., Moreau, D., Roussakis, C. & Roussis, V. (2005). Atomarianones A and B: two cytotoxic meroditerpenes from the brown alga *Taonia atomaria*. *Tetrahedron Lett.*, 46: 8525–8529.
- Abbott, I.A. (1967). Studies in some foliose red algae of the Pacific Coast I Cryptonemiaceae. *J. Phycol.*, 3: 139–149.
- Abourriche, A., Charrouf, M., Berrada, M., Bennamara, A., Chaib, N. & Francisco, C. (1999). Antimicrobial activities and cytotoxicity of the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Fitoterapia*, 70(6): 611-614.
- Agardh, C.A. (1820). *Species Algarum. Vol. 1, Part 1*. Lund: Berling
- Ainane, T., Abourriche, A., Bennamara, A. & Charrouf, M. (2015). Biological screening and bioguided fractionation of extracts of the brown alga *Cystoseira tamariscifolia* the Moroccan coast: Antibacterial activity and cytotoxicity test. *BTAIJ*, 11(7): 265-168.
- Ainane, T., Abourriche, A., Bennamara, A., Talbi, M. & Lemrani, M. (2018). Activité antileishmanienne des extraits d'une algue brune *Bifurcaria bifurcata* de la côte atlantique du Maroc. *Phytothérapie*, 16(2): 68-73.
- Ainane, T., Abourriche, A., Kabbaj, M., Elkouali, M., Bennamara, A., Charrouf, M. & Talbi, M. (2014a). Removal of hexavalent chromium from aqueous solution by raw and chemically modified seaweed *Bifurcaria bifurcata*. *J. Mat. Envir. Sci.*, 5(4): 975-982.
- Ainane, T., Abourriche, A., Kabbaj, M., Elkouali, M., Bennamara, A., Charrouf, M. & Lemrani, M. (2014b). Biological activities of extracts from seaweed *Cystoseira tamariscifolia*: Antibacterial activity, antileishmanial activity and cytotoxicity. *J. Chem. Pharma. Res.*, 6(4): 607-611.
- Airanthi, M.K., Hosokawa, M. & Miyashita, K. (2011). Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *J. Food Sci.*, 76: 104-111.
- Alves, C., Pinteus, S., Rodrigues, A., Horta, A. & Pedrosa, R. (2018a). Algae from Portuguese coast presented high cytotoxicity and antiproliferative effects on an in vitro model of human colorectal cancer. *Pharmacognosy Res.*, 10: 24–30.
- Alves, C., Silva, J., Pinteus, S., Gaspar, H., Alpoim, M.C., Botana, L.M. & Pedrosa, R. (2018b). From marine origin to therapeutics: The antitumor potential of marine algae-derived compounds. *Front. Pharmacol.*, 6;9:777. doi: 10.3389/fphar.2018.00777.
- Amico, V. (1995). Marine brown algae of family Cystoseiraceae: chemistry and chemotaxonomy. *Phytochemistry*, 39(6): 1257-1279.
- Amico, V., Cunsolo, F., Neri, P., Piattelli, M. & Ruberto, G. (1988a). Antimicrobial tetraprenyltoluquinol derivatives from *Cystoseira spinosa* var. *squarrosa*. *Phytochemistry*, 27: 1327-1331.

- Amico, V., Giaccone, G., Piatelli, M. & Ruberto, G. (1988b). Inheritance of chemical constituents in algae: tetraprenyltoluquinols of *Cystoseira elegans* x *C. algeriensis*. *Phytochemistry*, 27: 1069-1071.
- Amico, V., Neri, P., Oriente, G. & Piatelli, M. (1988c). Tetraprenyltoluquinol derivatives from the brown alga *Cystoseira zosteroides*. *Phytochemistry*, 28: 215-219.
- Amico, V., Cunsolo, F., Piatelli, M. & Ruberto, G. (1987). Prenylated O-methyltoluquinols from *Cystoseira stricta*. *Phytochemistry*, 26: 1719-1722.
- Amico, V., Cunsolo, F., Piatelli, M. & Ruberto, G. (1984). Five novel tetraprenyltoluquinols from the brown alga *Cystoseira algeriensis*. *Phytochemistry*, 23: 2017-2020.
- Ammar, H.H., Lajili, S., Said, R B., Le Cerf, D., Bouraoui, A. & Majdoub, H. (2015). Physico-chemical characterization and pharmacological evaluation of sulfated polysaccharides from three species of Mediterranean brown algae of the genus *Cystoseira*. *DARU J. Pharma. Sci.*, 23(1): 1. doi: 10.1186/s40199-015-0089-6.
- Andrade, P.B., Barbosa, M., Matos, R.P., Lopes, G., Vinholes, J., Mouga, T. & Valentão, P. (2013). Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chem.*, 138(2-3): 1819-1828.
- Anis, M., Ahmed, S. & Hasan, M.M. (2017). Algae as nutrition, medicine and cosmetic: The forgotten history, present status and future trends. *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, 6: 1934–1959.
- Anon. (2017). Inventaire national du Patrimoine naturel. Website. Paris: Muséum National d'Histoire Naturelle.
- Ayyad, S.E.N., Abdel-Halim, O.B., Shier, W.T. & Hoye, T.R. (2003). Cytotoxic hydroazulene diterpenes from the brown alga *Cystoseira myrica*. *Zeitschrift für Nat.*, 58(1-2): 33-38.
- Balboa, E.M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E. & Domínguez, H. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chem.*, 138(2–3): 1764–1785.
- Ballesteros, E., Torras, X., Pinedo, S., García, M., Mangialajo, L. & de Torres, M. (2007). A new methodology based on littoral community cartography dominated by macroalgae for the implementation of the European Water Framework Directive. *Mar. Pollut. Bull.*, 55: 172–80.
- Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2006). General overview. In *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. CRC Press: Boca Raton, pp. 1-34.
- Barsanti, L. & Gualtieri, P. (2014). *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. CRC press.
- Belattmania, Z., Engelen, A. H., Pereira, H., Serrão, E. A., Barakate, M., Elatouani, S., Zrid, R., Bentiss, F., Chahboun, N., Reani, A. & Sabour, B. (2016a). Potential uses of the brown seaweed *Cystoseira humilis* biomass: 2-Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities. *J. Mater. Environ. Sci.*, 7(6): 2074-2081.
- Belattmania, Z., Reani, A., Barakate, M., Zrid, R., El Atouani, S., Hassouani, M., Eddaoui, A., Bentiss, F. & Sabour, B. (2016b). Antimicrobial, antioxidant and alginate potentials of

Dictyopteris polypodioides (Dictyotales, Phaeophyceae) from the Moroccan Atlantic coast. *Der. Pharma. Chem.*, 8(2): 216-226.

- Benhissoune, S. (1995). Contribution à l'étude phyto-écologique du phytobenthos marin de la région de Rabat-Mohammedia (Atlantique marocain). Ph.D. Thesis, Université Mohammed V, Faculté des Sciences Rabat, Morocco. 253 pp.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F. & Verlaque, M. (2002a). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. II. Phaeophyceae. *Bot. Mar.* 45(3): 217-230.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F., Perret-Boudouresque, M. & Verlaque, M. (2002b). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. III. Rhodophyceae (excluding Ceramiales). *Bot. Mar.* 45(5): 391-412.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F. & Verlaque, M. (2001). A check-list of marine seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. I. Chlorophyceae Wille s. l. *Bot. Mar.* 44: 171-182.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F., Perret-Boudouresque, M. & Verlaque, M. (2003). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. IV. Rhodophyceae-Ceramiales. *Bot. Mar.*, 46: 55-68.
- Bennamara, A., Abourriche, A., Berrada, M., Charrouf, M., Chaib, N., Boudouma, M. & Garneau, F. (1999). Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 52: 37-40.
- Bermejo, R., Chefaoui, R.M., Engelen, A.H., Buonomo, R., Neiva, J., Ferreira-Costa, J., Pearson, G.A., Marbà, N., Duarte, C.M., Airoidi, L., Hernández, I., Guiry, M.D. & Serrão, E.A. (2018). Marine forests of the Mediterranean-Atlantic *Cystoseira tamariscifolia* complex show a southern Iberian genetic hotspot and no reproductive isolation in parapatry. *Sci. Rep.*, 8(1, 101427): 1-13.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S. & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J.*, 5: 9-19.
- Bixler, H.J. & Porse, H. (2011). A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *J. Appl. Phycol.*, 23: 321-335.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G. & Prinsep, M.R. (2015). Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, 32: 116-211.
- Bocanegra, A., Bastida, S., Benedi, J., Rodenas, S. & Sanchez-Muniz, F. J. (2009). Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *J. Med. Food*, 12: 236-258.
- Boedeker, C., Leliaert, F. & Zuccarello, G.C. (2016). Molecular phylogeny of the Cladophoraceae (Cladophorales, Ulvophyceae), with the resurrection of *Acrocladus* Nägeli and *Willeella* Børgesen, and the description of *Lurbicagen* nov. and *Pseudorhizoclonium* gen. nov.. *J. Phycol.*, 52: 905-928.

- Bold, H.C. & Wynne, M.J. (1985). *Introduction to the algae: structure and reproduction*. PrenticeHall: Englewood Cliffs. 706 pp.
- Bornet, É. (1892). Les algues de P.-K.-A. Schousboe: récoltées au Maroc & dans la Méditerranée de 1815 à 1829. *Mém. Soc. Sci. Nat. Math. Cherbourg* 28: 165-378.
- Bouhlal, R., Haslin, C., Chermann, J. C., Collic-Jouault, S., Sinquin, C., Simon, G., Cerantola, S., Riadi, H. & Bourgougnon, N. (2011). Antiviral activities of sulfated polysaccharides isolated from *Sphaerococcus coronopifolius* (Rhodophyta, Gigartinales) and *Boergeseniella thuyoides* (Rhodophyta, Ceramiales). *Mar. drugs*, 9(7): 1187-1209.
- Bouhlal, R. (2010). Activités biologiques de principes actifs de différents extraits d'algues rouges marines (Rhodophyceae) de la côte atlantico-méditerranéenne du Maroc. PhD. Thesis, University Abdelmalek Essaadi - Faculty of Sciences Tetouan, Morocco. 379 pp.
- Bouhlal, R., Hassane, R. & Nathalie, B. (2010a). Antiviral activity of the extracts of Rhodophyceae from Morocco. *Afric. J. Biotech.*, 9(46): 7968-7975.
- Bouhlal, R., Hassane, R., José, M. & Nathalie, B. (2010b). The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *Afric. J. Biotech.*, 9(38): 6365-6372.
- Bouhlal, R., Hassane, R. & Nathalie, B. (2013). Antioxidant activity of Rhodophyceae extracts from Atlantic and Mediterranean Coasts of Morocco. *Afric. J. Plant Sci.*, 7(3): 110-117.
- Bruno de Sousa, C., Gangadhar, K.N., Morais, T.R., Conserva, G.A.A., Vizetto-Duarte, C., Pereira, H., Laurenti, M.D., Campino, L., Levy, D., Uemi, M. & Barreira, L. (2017a). Antileishmanial activity of meroditerpenoids from the macroalgae *Cystoseira baccata*. *Exp Parasitol. Exp. Parasit.*, 174: 1-9.
- Bruno de Sousa, C., Gangadhar, K.N., Macridachis, J., Pavão, M., Morais, T.R., Campino, L., Varela, J. & Lago, J.H.G. (2017b). *Cystoseira* algae (Fucaceae): update on their chemical entities and biological activities. *Tetrahedron Asymmetry*, 28: 1486-505.
- Bueno del Campo, I. & González-García, J. A. (1996). *Guía marina de la región de Melilla*. Colección Ensayos Melillenses. Fundación Municipal Sociocultural. Excmo. Ayuntamiento de Melilla, Melilla, 276 pp.
- Burel, T., Le Duff, M. & Ar Gall, E. (2019). Updated check-list of the seaweeds of the French coasts, Channel and Atlantic Ocean. *An aod. Cah. Nat. Observ. Mar. Brest*, 1: 1-38.
- Burtin, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.* 2: 498-503.
- Calder, P.C. (2006). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Prostagland. Leuk. Ess. Fatty Acids* 75: 197-202.
- Cardoso, S.M., Pereira, O.R., Seca, A.M.L., Pinto, D.C.G.A. & Silva, A.M.S. (2015). Seaweeds as preventive agents for cardiovascular diseases: From nutrients to functional foods. *Mar. Drugs*, 13: 6838-6865.

- Cardozo, K. H., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcao, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., Campos, S., Torres, M. A., Souza, A. O., Colepicolo, P. & Pinto, E. (2007). Metabolites from algae with economical impact. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 146: 60-78.
- Chapman, D.J & Chapman, V.J. (1973). *The algae*. Springer.
- Chapman, R.L., Buchheim, M.A. & Hoshaw, R.W. (1991). Ribosomal RNA gene sequences: Analysis and significance in the phylogeny and taxonomy of green algae. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 10(4): 343-368.
- Cheung, R.C.F, Wong, J.H., Pan, W.L, Chan, Y.S., Yin, C.M., Dan, X.L., Wang, H.X., Fang, E.F., Lam, S.K., Ngai, P.H.K., Xia, L.X., Liu, F., Ye, X.Y., Zhang, GQ., Liu, Q.H., Sha, O., Lin, P., Ki, C., Bekhit, A.A., Bekhit, A.E.D., Wan, D.C.C., Ye, X.J., Xia, J. & Ng, T.B. (2014). Antifungal and antiviral products of marine organisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98: 3475–3494.
- Chiheb, I. (2010). Diversité et activités antibactériennes des Chlorophyceae et Phaeophyceae benthiques marines de la côte Nord-Ouest du Maroc. PhD. Thesis, University Abdelmalek Essaadi - Faculty of Sciences Tetouan, Morocco. 244 pp.
- Chiheb, I., Hassane, R., Jose, M., Francisco, D. S. J., Antonio, G. V. J., Hassan, B. & Mohamed, K. (2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *Afric. J. Biotech.*, 8(7): 1258-1262.
- Chkhikvishvili, I. D. & Ramazanov, Z.M. (2000). Phenolic substances of brown algae and their antioxidant activity. *App. Biochem. Microb.*, 36(3): 289-291.
- Cho, M., Lee, H.S., Kang, I.J., Won, M.H. & You, S. (2011). Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. *Food Chem.*, 127: 999-1006.
- Cho, S.H., Cho, J.Y., Kang, S.E., Hong, Y.K. & Ahn, D.H. (2008). Antioxidant activity of mojabanchromanol, a novel chromene, isolated from brown alga *Sargassum siliquastrum*. *J. Environ. Biol.*, 29: 479–484.
- Chojnacka, K., Saeid, A., Witkowska, Z. & Tuhy, L. (2012). Biologically active compounds in seaweed extracts-the prospects for the application. *Open Confer. Proceed. J.*, 3(1): 20-29.
- Colombo, M.L., Risé, P., Giavarini, F., de Angelis, L., Galli, C. & Bolis, C.L. (2006). Marine macroalgae as source of polyunsaturated fatty acids. *Plant Food Hum. Nutr.*, 61: 67-72
- Conde Poyales, F. (1989). Ficogeografía del mar d’Alborán en el contexto del Mediterráneo occidental. *Anal. Jard. Bot. Madrid*, 46: 21-26
- Conde Poyales, F. (1984). Contribución al conocimiento de la flora algal bentónica del Mar de Alborán, Islas Chafarinas. *Acta Bot. Malacit.*, 9: 41-46.
- Cormaci, M., Furnari, G. & Alongi, G. (2014). Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae. *Boll. Sedute. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania*, 45(375): 1-508.
- Cornish, M. L & Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: potential applications in human health and nutrition. *Algae*, 25: 1–17.

- Cragg, G.M. & Pezzuto, J.M. (2016). Natural products as a vital source for the discovery of cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Med. Princ. Pract.*, 25: 41–59.
- Cragg, G.M., Grothaus, P. & Newman, D.J. (2009). Impact of natural products on developing new anti-cancer agents. *Chem. Rev.*, 109: 3012–3043
- Dangeard, P. (1937). Sur les zones d'algues marines du Maroc occidental. *C. R. Acad. Sci.*, 204: 795–797.
- Dangeard, P. (1939). Sur quelques algues marines nouvelles pour le Maroc occidental. *C. R. Acad. Sci.* 208: 1334–1336.
- Dangeard, P. (1948). Sur la flore des algues marines du Maroc occidental. *C. R. Acad. Sci.* 227: 364–365.
- Dangeard, P. (1949). Les algues marines de la côte occidentale du Maroc. *Le Botanisten* 34: 89-189.
- Dangeard, P. (1959). Observations écologiques sur les algues du Maroc atlantique. In: (CNRS., ed.) *Ecologie des Algues Marines. Colloque Internat., Dinard 20–28 Septembre 1957.* CNRS Paris. 57–63 pp.
- Dawczynski, C., Schubert, R. & Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. *Food Chem.*, 103: 891-899.
- De Buen, O. (1913). Notes sur les fonds et sur la peche dans la côte méditerranéenne du Rif. *Atti V Congr. Internaz. di Pesca. Roma.*
- De Jussieu, AL. (1789). *Genera Plantarum: secundum ordines naturales disposita, juxta methodum in Horto regio parisiensi exaratam, anno M.DCC.LXXIV*http://www.biodiversitylibrary.org/item/7125. Paris.
- De los Reyes, C., Ortega, M. J., Zbakh, H., Motilva, V. & Zubia, E. (2016). *Cystoseira usneoides*: A brown alga rich in antioxidant and anti-inflammatory meroditerpenoids. *J. Nat. Prod.*, 79(2): 395-405.
- De los Reyes, C., Zbakh, H., Motilva, V. & Zubía, E. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory meroterpenoids from the brown alga *Cystoseira usneoides*. *J. Nat. Prod.*, 76: 621-629
- Debray, F. (1897). *Catalogue des algues du Maroc, d'Algérie & de Tunisie.* Librairie Adolphe Jourdan, Alger, 78 pp.
- Della Pieta, F., Bilia, A.R., Breschi, M.C., Cinelli, F., Morelli, I. & Scatizzi, R. (1993). Crude extracts and two linear diterpenes from *Cystoseira balearica* and their activity. *Planta Med.*, 59(02): 135-138.
- Dias, D. A., Urban, S. & Roessner, U. (2012). A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*, 2: 303-336
- Dorta, E., Cueto, M., Bito, I. & Darias, J. (2002). New terpenoids from the brown alga *Stypodium zonale*. *J. Nat. Prod.*, 65: 1727-1730

- Draisma, S.G.A., Ballesteros, E., Rousseau, F. & Thibaut, T.J. (2010). DNA sequence data demonstrate the polyphyly of the genus *Cystoseira* and Sargassaceae genera (Phaeophyceae). *J. Phycol.*, 46: 1329-1345.
- Dröge, D. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.*, 82: 47–95.
- El Atouani, S., Bentiss, F., Reani, A., Zrid, R., Belattmania, Z., Pereira, L., Mortadi, A., Cherkaoui, O. & Sabour, B. (2016). The invasive brown seaweed *Sargassum muticum* as new resource for alginate in Morocco: Spectroscopic and rheological characterization. *Phycol. Res.*, 64(3): 185-193.
- Ercegovic, A. (1952). Sur les *Cystoseira* adriatiques, leur morphologie, ecologie et evolution. *Fauna Flora Adr.* 2: 1-212.
- Fadli, M., Aracil, J.M., Jeanty, G., Banaigs, B. & Francisco, C. (1991b). Novel meroterpenoids from *Cystoseira mediterranea*: use of the crown-gall bioassay as a primary screen for lipophilic antineoplastic agents. *J. Nat. Prod.*, 54: 261–264
- Fadli, M., Aracil, M., Jeanty, G., Banaigs, B., Francisco, C. & Moreau, S. (1991a). Algue brune *Cystoseira mediterranea*. *Tetrahed. Let.*, 32: 2477-2480.
- Fang, H.Y., Chokkalingam, U., Chiou, S.F., Hwang, T.L., Chen, S.L., Wang, W.L. & Sheu, J.H. (2015). Bioactive chemical constituents from the brown alga *Homoeostrichus formosana*. *Int. J. Mol. Sci.*, 16: 736–746.
- Farvin, K.H.S. & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chem.*, 138: 1670–1681
- Faulkner, D.J. (2002). Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, 19: 1-48.
- Faulkner, D.J. (1984). Marine Natural products: metabolites of marine algae and herbivorous marine molluscs. *Nat. Prod. Rep.*, 1: 251–280.
- Federico, A., Morgillo, F., Tuccillo, C., Ciardiello, F. & Loguercio, C. (2007). Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *Int. J. Cancer*, 121: 2381–2386.
- Feinberg, A.P., Ohlsson, R. & Henikoff, S. (2006). The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat. Rev. Genet.*, 7: 21–33.
- Feldmann, G. (1953). Les Charophycées marocaines. *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc* 33: 13-22.
- Feldmann, J. (1955). La Zonation des algues sur la Côte atlantique du Maroc. *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc*, 35: 9–17.
- Feldmann, J. (2008). Les algues, Encyclopédie Universalis, CD-ROM
- Fernández, J., Navarro, G. & Norte, M. (2006). Novel metabolites from the Brown alga *Cystoseira abies-marina*. *Nat. Prod. Res.*, 12: 285-291
- Fernando, I.P.S., Nah, J.W. & Jeon, Y.J. (2016). Potential anti-inflammatory Natural products from marine algae. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 48: 22–30

- Ferreres, F., Lopes, G., Gil-Izquierdo, A., Andrade, P. B., Sousa, C., Mouga, T. & Valentao, P. (2012). Phlorotannin Extracts from Fucales Characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: Approaches to Hyaluronidase Inhibitory Capacity and Antioxidant Properties. *Mar. Drugs*, 10: 2766-2781.
- Fisch, K.M., Böhm, V., Wright, A.D. & König, G.M. (2003). Antioxidative Meroterpenoids from the Brown Alga *Cystoseira crinita*. *J. Nat. Prod.*, 66(7): 968-975.
- Flora, S.J. (2009). Structural, chemical and biological aspects of antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2: 191-206.
- Flores-Moya, C. & Conde Poyales, F. (1998). Nuevas citas de macroalgas marinas para las islas Chafarinas. *Acta Bot. Malacit.*, 23: 197-199.
- Folmer, F., Jaspars, M., Dicato, M. & Diederich, M. (2010). Photosynthetic marine organisms as a source of anticancer compounds. *Phytochem. Rev.*, 9: 557-579.
- Foslie, M. (1897). On some Lithothamnia. *Kgl. Norske Vidensk. Selsk. Skr.* 1:1-20.
- Foslie, M. (1904). Die Lithothamniën des Adriatischen Meeres und Marokkos. *Wissens. Meeresunters. Abteil. Helgoland Neue Folge* 7(1): 1-40.
- Foslie, M. (1907). Algologische notiser IV. *Kgl. Norske Vidensk. Selsk. Skr.* 6: 1-30.
- Foslie, M. (1909). Algologische notiser VI. *Kgl. Norske Vidensk. Selsk. Skr.* 2: 1-63.
- Foti, M., Piattelli, M., Amico, V. & Ruberto, G. (1994). Antioxidant activity of phenolic meroditerpenoids from marine algae. *J. Photochem. Photobiol.*, 26: 159-164
- Francisco, C., Banaigs, B., Teste, J. & Cave, A. (1986). Mediterraneanols: a novel biologically active class of rearranged diterpenoid metabolites from *Cystoseira mediterranea* (Pheophyta). *J. Org. Chem.*, 51: 1115-1120.
- Gallardo, T., Bárbara, I., Afonso-Carrillo, J., Bermejo, R., Altamirano, M., Gómez Garreta, A., Barceló Martí, M.C., Rull Lluch, J., Ballesteros, E. & De la Rosa, J. (2016). Nueva lista crítica de las algas bentónicas marinas de España. A new checklist of benthic marine algae of Spain. *Algas*, 51: 7-52.
- García-Fernández, A. & Bárbara, I. (2016). Studies of *Cystoseira* assemblages in Northern Atlantic Iberia. *Anal. Jard. Bot. Madrid*, 73(1): e035. doi: [http:// dx.doi.org/ 10.3989/ jbm. 2403](http://dx.doi.org/10.3989/jbm.2403).
- Gattefosse, J. & Werner, R. G. (1935). Catalogus algarum Marocanorum adhuc cognitorum. *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc*, 15: 72-107.
- Gayral, P. & Cauro, R. (1958). Observations sur les variations morphologiques et floristiques d'une zone côtière adjacente à l'estuaire du Bou Regreg (rive gauche). *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc*, 38: 59-70.
- Gayral, P. & Seizilles de Mazancourt, J. (1961). Résultats d'une étude écologique et floristique de l'embouchure de l'oued Bou Regreg (Maroc) Avec 2 figures dans le texte et en supplément. *Int. Ver. Theor. Angew. Verhandlungen*, 14(1): 475-480.

- Gayral, P. (1957). Résultat d'une prospection algologique à l'île de Mogador. *C. R. Acad. Sci.*, 245: 358–360.
- Gayral, P. (1958). Algues de la côte atlantique marocaine. *Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc, Rabat*, 523 pp.
- Gayral, P. (1961). Liste commentée des algues marines nouvelles pour le Maroc, reconnues depuis 1949. *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc*, 41: 1-17.
- Glombitza, K-W., Rosener H-U. & Müller, D. (1975). Bifupalol und diphlorethol aus *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 14: 1115–1116.
- González-García, J.A. & Conde-Poyales, F. (1991). Estudio florístico, fenológico, autoecológico y fitogeográfico del macrofitobentos de la Mar Chica (Sebcha Buareg de Nador, Mediterráneo Marroquí). *Acta Bot. Malacit.* 16: 63-80.
- González-García, J.A. & Conde-Poyales, F. (1994). Catálogo del macrofitobentos del Mediterráneo de Marruecos. *Acta Bot. Malacit.*, 19: 5-27.
- González-García, J.A. & Conde-Poyales, F. (1995). Etudes comparatives sur le macrophytobenthos de trois lagunes côtières de la Méditerranée occidentale. *Nova Hedwigia*, 61: 377–390.
- González-García, J.A. (1994). *La flora marina de Melilla*. Colección Ensayos Melillenses. Fundación Municipal Sociocultural. Excmo. Ayuntamiento de Melilla, Melilla, 212 pp.
- Goodwin, T. (1974). Carotenoids and biliproteins. In: *Algal physiology and biochemistry*. Stewart W.D.P. (eds). Blackwell Scientific Publications, pp. 176-205
- Gouveia, V., Seca, A.M.L., Barreto, M.C. & Pinto, D.C.G.A. (2013a). Di-and sesquiterpenoids from *Cystoseira* genus: Structure, intra-molecular transformations and biological activity. *Mini-Rev. Med. Chem.*, 13: 1150–1159.
- Gouveia, V.L.M., Seca, A.M.L., Barreto, M.C., Neto, A.I., Kijjoa, A. & Silva, A.M.S. (2013b). Cytotoxic meroterpenoids from the macroalga *Cystoseira abies-marina*. *Phytochemistry Lett.*, 6: 593–597
- Guiry, M. D. & Guiry, G. M. (2019). AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Available from: <http://www.algaebase.org>. Accessed Oct 31, 2019.
- Guiry, M.D. (2012). How many species of algae are there?. *J. Phycol.*, 48(5): 1057-1063.
- Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: a structure–activity insight. *Innov. Food Sci. Emerg. Tech.*, 11(1): 210-218.
- Gulioli, G., Oratalo-Magne, A., Daoudi, M., Guyon, H.T., Valls, R. & Piovetti, L. (2004). Trihydroxylated linear diterpenes from the brown alga *Bifurcaria bifurcata*. *Phytochemistry*, 65: 2063–2069
- Güner, A., Köksal, Ç., Erel, Ş.B., Kayalar, H., Nalbantsoy, A., Sukatar, A. & Yavaşoğlu, N.Ü.K. (2015). Antimicrobial and antioxidant activities with acute toxicity, cytotoxicity and

mutagenicity of *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff & Nizamuddin from the coast of Urla (Izmir, Turkey). *Cytotechnology*, 67: 135–43.

- Gupta, S. & Abu-Ghannam, N. (2011). Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innov Food Sci. Emerg. Technol.*, 12: 600–609.
- Hadj Ammar, H., Lajili, S., Ben Said, R., Le Cerf, D., Bouraoui, A. & Majdoub, H. (2015). Physico-chemical characterization and pharmacological evaluation of sulfated polysaccharides from three species of Mediterranean brown algae of the genus *Cystoseira*. *Daru*, 23:1. doi: 10.1186/s40199-015-0089-6.
- Hamdy, A. H. A., Aboutabl, E. A., Sameer, S., Hussein, A. A., Díaz-Marrero, A. R., Darias, J. & Cueto, M. (2009). 3-Keto-22-epi-28-nor-cathasterone, a brassinosteroid-related metabolite from *Cystoseira myrica*. *Steroids*, 74(12): 927-930.
- Hariot, P. (1909). Sur une collection d'algues recueillies au Maroc par M. Buchet. *Bull. Mus. Nation. Hist. Nat. Paris*, 15: 128-130.
- Harvey, W.H. (1836). In: Mackay JT (ed) *Algae. Flora Hibernica*, Dublin
- Hassoun, M. (2018). Phycological study of three localities along the Atlantic coast on the Northwest of Morocco (Asilah, Larache and Hyayda). Ph.D. Thesis, University Abdelmalek Essaadi - Faculty of Sciences Tetouan, Morocco. 256 pp.
- Hassoun, M., Wynne, M. J., Moussa, H., Salhi, G., Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2018a). An investigation of members of the tribe Ceramieae (Ceramiaceae, Rhodophyta) occurring on both the Mediterranean and Atlantic shores of Morocco. *Algae*, 33(3): 243-267.
- Hassoun, M., Moussa, H., Salhi, G., Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2018b). New records of benthic marine algae from Morocco (eastern Atlantic Ocean): morphology, taxonomy and distribution. *Acta Bot. Malacit.*, 43: 111-116.
- Hassoun, M., Salhi, G., Kazzaz, M., Riadi, H. & Moussa, H. (2016a). New records of *Polysiphonia* sensu lato from the Atlantic Ocean in Morocco. *Mar. Biodivers.*, 46(2): 443–449.
- Hassoun, M., Salhi, G., Moussa, H., Riadi, H., Kazzaz, M. & Zbakh H. (2016b). *Ceramium cornutum* and *Ceramium pallidum* (Rhodophyta: Ceramiales) two new records for Morocco: morphology and reproductive structures. *Bot. Lett.*, 163(1): 25-31.
- Hassoun, M., Moussa, H., Kazzaz, M., Riadi, H. & Salhi, G. (2015). First record of *Polyneura bonnemaisonii* (Delesseriaceae, Rhodophyta) from the Atlantic Ocean of Africa. *Mar. Biodivers. Rec.*, 8: e139. <https://doi.org/10.1017/S1755267215001190>.
- Hassoun, M., Salhi, G., Bouksir, H., Moussa, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2014). *Codium tomentosum* var. *mucronatum* et son epiphyte *Aglaothamnion pseudobyssoides*, deux nouvelles espèces d'algues benthiques pour la phycoflore du Maroc. *Acta Bot. Malacit.*, 39: 37–44.
- Hayyan, M., Hashim M.A. & Alnashef, I.M. (2016). Superoxide ion: generation and chemical implications. *Chem. Rev.*, 116: 3029–3085

- Heo, S.J., Park, P.J., Park, E.J., Kim, S.K. & Jeon, Y.J. (2005). Antioxidant activity of enzymatic extracts from a brown seaweed *Ecklonia cava* by electron spin resonance spectrometry and comet assay. *Eur. Food. Res. Technol.*, 221: 41–47.
- Hoffmann, L. (1989). Algae of terrestrial habitats. *Bot. Review*, 55(2): 77–105.
- Huamantupa, I., Cuba, M., Urrunaga, R., Paz, E., Ananya, N., Callalli, M., Pallqui, N. & Coasaca H. (2011). Richness, use and origin of expended medicinal plants in the markets of the Cusco City. *Rev. Peru. Biol.*, 18: 283–291.
- Huang, H.L., Wu, S.L., Liao, H.F., Jiang, C.M., Huang, R.L., Chen, Y.Y., Yang, Y.C. & Chen, Y.J. (2005). Induction of apoptosis by three marine algae through generation of reactive oxygen species in human leukemic cell lines. *J. Agric. Food Chem.*, 9: 1776-1781.
- Hussain, E., Wang, L., Jiang, B., Riaz, S., Butt, G.Y. & Shi, D. (2016). A review of the components of brown seaweeds as potential candidates in cancer therapy. *RSC Adv.*, 6: 12592–12610.
- IARC, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Press Release n° 263, Mars 2019. Available online: <http://gco.iarc.fr/today/home> (accessed on 31 October 2019).
- Imbesi, S., Musolino, C., Allegra, A., Saija, A., Morabito, F., Calapai, G. & Gangemi, S. (2013). Oxidative stress in oncohematologic diseases: an update. *Expert Rev. Hematol.*, 6: 317–325
- Ishitsuka, O.M., Kusumi, T. & Kakisawa, H. (1988). Antitumor xenicane and norxenicane lactones from the brown algae *Dictyota dichotoma*. *J. Org. Chem.*, 5: 5010-5013.
- Jiménez-Escrig, A., Jiménez-Jiménez, I., Pulido, R. & Saura-Calixto, F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *J. Sci. Food Agric.*, 81: 530–534
- Jung, M., Jang, K.H., Kim, B., Lee, B.H., Choi, B.W., Oh, K.B. & Shin, J. (2008). Meroditerpenoids from the brown alga *Sargassum siliquastrum*. *J. Nat. Prod.*, 71: 1714-1719
- Kamenarska, Z., Yalçın, F.N., Ersöz, T., Calis, I., Stefanova, K. & Popov, S. (2002). Chemical composition of *Cystoseira crinita* Bory from the Eastern Mediterranean. *Z Nat. C.*, 57(7-8): 584-590.
- Kang, H.S., Chung, H.Y., Jung, J.H., Son, B.W. & Choi, J.S. (2003). A new phlorotannin from the brown alga *Ecklonia stolonifera*. *Chem. Pharm. Bull.*, 51: 1012–1014.
- Kang, H.S., Chung, H.Y., Kim, J.Y., Son, B.W., Jung, H.A. & Choi, J.S. (2004). Inhibitory phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive oxygen species (ROS) generation. *Arch. Pharm. Res.*, 27: 194–198.
- Kanias, G. D., Skaltsa, H., Tsitsa, E., Loukis, A. & Bitis, J. (1992). Study of the correlation between trace elements, sterols and fatty acids in brown algae from the Saronikos Gulf of Greece. *Fresenius' J. Analytic. Chem.*, 344(7-8): 334-339.

- Kapetanovic, R., Sladić, D., Popov, S., Zlatović, M., Kljajic, Z. & Gasic, M.J. (2005). Sterol composition of the Adriatic Sea algae *Ulva lactuca*, *Codium dichotomium*, *Cystoseira adriatica* and *Fucus virsoides*. *J. Serb. Chem. Societ.*, 70(12): 1395-1400.
- Kazzaz, M. (1989). Contribution à l'étude de la flore algale de la région ouest de la Méditerranée. Doct. 3ème. cycle. Fac. Sc. Rabat. 246 pp.
- Kazzaz, M. & Riadi, H. (2000). Inventaire préliminaire de la phycoflore benthique du littoral marocain. II. Rhodophyceae. *Acta Bot. Barc.*, 46: 53–88.
- Kazzaz, M. (2003). Contribution à l'étude de la phycoflore Rhodophyceae du littoral de la rive sud du Détroit de Gibraltar et de la Méditerranée (Systématique, Chorologie, Synécologie, Biogéographie et Phénologie). PhD. Thesis, University Abdelmalek Essaadi - Faculty of Sciences Tetouan, Morocco. 343 pp,
- Keeling, P.J. (2013). The number, speed, and impact of plastid endosymbioses in eukaryotic evolution. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 64: 583-607
- Khanavi, M., Nabavi, M., Sadati, N., Shams Ardekani, M., Sohrabipour, J., Nabavi, S.M., Ghaeli, P. & Ostad, S.N. (2010). Cytotoxic activity of some marine brown algae against cancer cell lines. *Biol. Res.*, 43: 31-37.
- Kim, S.K. (2013). *Marine Nutraceuticals: Prospects and Perspectives*. CRC Press, Switzerland, p. 464.
- Kong, C.S., Kim, J.A., Yoon, N.Y. & Kim, S.K. (2009). Induction of apoptosis by phloroglucinol derivative from *Ecklonia cava* in MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem. Toxicol.*, 47: 1653-1658.
- Kumar, S. & Pandey, A.K. (2015). Free radicals: health implications and their mitigation by herbals. *Br. J. Med. Med. Res.*, 7: 438–457.
- Kumari, P., Reddy, C. R. & Jha, B. (2011). Comparative evaluation and selection of a method for lipid and fatty acid extraction from macroalgae. *Anal. Biochem.*, 415: 134- 144.
- Lamouroux, J.V.F. (1813). Essai sur les genres de la famille des Thalassiophytes non articulées. *Annal. Muséum. Histoir. Nat. Paris*, 20: 1-93.
- Lanigan, R.S. & Yamarik, T.A. (2002). Final report on the safety assessment of BHT (1). *Int. J. Toxicol.*, 21 Suppl 2: 19-94.
- Lartigue, J. (2018). Tumor heterogeneity: A central foe in the war on cancer. *J. Community Support. Oncol.*, 16: 167–174.
- Leal, M.C., Munro, M.H.G., Blunt, J.W., Puga, J., Jesus, B., Calado, R., Rosa, R. & Madeira, C. (2013). Biogeography and biodiscovery hotspots of macroalgal marine Natural products. *Nat. Prod. Rep.*, 30: 1380–1390.
- Lee, J.C., Hou, M.F., Huang, H.W., Chang, F.R., Yeh, C.C., Tang, J.Y. & Chang, H.W. (2013). Marine algal Natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. *Cancer Cell. Int.*, 13: 1–7.

- Lee, J.H., Ko, J.Y., Samarakoon, K., Oh, J.Y., Heo, S.J., Kim, C.Y., Nah, J.W., Jang, M.K., Lee, J.S. & Jeon, Y.J. (2013). Preparative isolation of sargachromanol E from *Sargassum siliquastrum* by centrifugal partition chromatography and its anti-inflammatory activity. *Food Chem. Toxicol.*, 62: 54–60.
- Lee, J.I. & Seo, Y. (2011). Chromanols from *Sargassum siliquastrum* and their antioxidant activity in HT1080 cells. *Chem. Pharm. Bull.*, 59: 757–761.
- Lee, R.E. (2008). Basic characteristics of the algae. In *Phycology*. Fourth ed. Cambridge University Press: Cambridge, pp. 3–29.
- Leliaert, F. & Coppejans, E. (2006). A revision of *Cladophoropsis Børgesen* (Siphonocladales, Chlorophyta). *Phycologia*, 45(6): 657-679.
- Lemieux, C., Vincent, A. T., Labarre, A., Otis, C. & Turmel, M. (2015). Chloroplast phylogenomic analysis of chlorophyte green algae identifies a novel lineage sister to the Sphaeropleales (Chlorophyceae). *BMC Evol. Bio.*, 15(1): 264. doi.org/10.1186/s12862-015-0544-5.
- Lemoine, Mme P. (1924). Corallinacées du Maroc. *Bull. Soc. Sci. Nat. Maroc* 4:113–134.
- Lemoine, Mme P. (1926). Corallinacées du Maroc II. *Bull. Soc. Sci. Nat. Maroc* 6: 106–108.
- Linnaeus C. (1753). Species plantarum, vol 1 and 2, In Stearn WT (1957), Carl Linnaeus Species Plantarum. Royal Society, London.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.*, 4: 118-126.
- López-Alarcón, C. & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of Natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Anal. Chim. Acta.*, 763: 1–10.
- Lourenço, S.O., Barbarino, E., De-Paula, J.C., Pereira L.O.D.S. & Marquez, U.M.L. (2002). Amino acid composition, protein content and calculation of nitrogen-to- protein conversion factors for 19 tropical seaweeds. *Phycol. Res.*, 50: 233-241.
- Mabeau, S. & Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci. Tech.*, 4: 103-107.
- MacArtain, P., Gill, C.I., Brooks, M., Campbell, R. & Rowland, I.R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutr. Rev.*, 65: 535-543.
- Maggs, C.A. & Hommersand, M. H. (1993). *Seaweeds of the British Isles. Vol. 1. Rhodophyta Part A, 3. Ceramiales*. HMSO, London, 444 pp.
- Mandal, P., Mateu, C.G., Chattopadhyay, K., Pujol, C.A., Damonte, E.B. & Ray, B. (2007). Structural features and antiviral activity of sulphated fucans from the brown seaweed *Cystoseira indica*. *Antivir. Chem. Chemother.*, 18: 153–62.
- Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A. & Moreira, W.S. (2006). Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresour Technol.*, 97: 2402-2406.
- Marsham, S., Scott, G.W. & Tobin, M.L. (2007). Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds. *Food Chem.*, 100: 1331-1336.

- Martínez, B. & Rico, M.J. (2002). Seasonal variation of P content and major N pools in *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *J. Phycol.*, 38: 1082–1089.
- Mattox, K.R. & Stewart, K.D. (1984). Classification of the green algae: a concept based on comparative cytology. In Irvine, D.E.G. & John, D.M. (eds.). *The systematics of Green Algae*. The Systematics Association, pp. 29- 72. London: Academic Press
- Mesguiche, V., Valls, R., Piovetti, L. & Banaigs, B. (1997). Meroditerpenes from *Cystoseira amentacea* var. *stricta* collected off the Mediterranean coasts. *Phytochemistry*, 45: 1489-1494.
- Mhadhebi, L., Laroche-Clary, A., Robert, J. & Bouraoui, A. (2011). Antioxidant, antiinflammatory, and antiproliferative activities of organic fractions from the Mediterranean brown seaweed *Cystoseira sedoides*. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 89: 911-921.
- Mhadhebi, L., Mhadhebi, A., Robert, J. & Bouraoui, A. (2014). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative effects of aqueous extracts of three mediterranean brown seaweeds of the genus *Cystoseira*. *Iranian J. Pharma. Res: IJPR*, 13(1): 207-220.
- Michalak, I. & Chojnacka, K. (2015). Algae as production systems of bioactive compounds. *Eng. Life Sci.*, 15: 160–176.
- Mighri, Z., Benzarti, A., Hammami, S. & Hamza, M.A. (2009). A new sterol, Saoussazine, Fucosterol and 2-ethylhexylphtalate from the brown alga *Cystoseira compressa* (C. Agardh) growing in Tunisian coast. *Tunis. J. Med. Plant. Nat. Prod.*, 1: 1-6.
- Milkova, T., Talev, G., Christov, R., Dimitrova-Konaklieva, S. & Popov, S. (1997). Sterols and volatiles in *Cystoseira barbata* and *Cystoseira crinita* from the Black Sea. *Phytochemistry*, 45(1): 93-95.
- Misurcova, L., Machu, L. & Orsavova, J. (2011). Seaweed minerals as nutraceuticals. *Adv. Food Nutr. Res.* 64: 371-390.
- Mišurcová, L., Škrovánková, S., Samek, D., Ambrožová, J. & Machů, L. (2012). Health benefits of algal polysaccharides in human nutrition. *Adv. Food Nutr. Res.*, 66: 75-145.
- Mokrini, R., Mesaoud, M. B., Daoudi, M., Hellio, C., Maréchal, J. P., El Hattab, M., Ortalo-Magné, A., Piovetti, L. & Culioli, G. (2008). Meroditerpenoids and derivatives from the brown alga *Cystoseira baccata* and their antifouling properties. *J. Nat. Prod.*, 71(11): 1806-1811.
- Moussa, H., Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H. & Riadi, H. (2018). Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area). *Acta Bot. Malacit.*, 43: 91-109.
- Moussa, H., Wynne, M. J., Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H., Kazzaz, M. & Riadi, H. (2015). On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco). *Bot. Mar.*, 58(6): 499-509. <https://doi.org/10.1515/bot-2015-0048>.

- Mullard, A. (2015). FDA approves first immunotherapy combo. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 14: 739. DOI. <https://doi.org/10.1038/nrd4779>.
- Murphy, C., Hotchkiss, S., Worthington, J. & McKeown, S.R. (2014). The potential of seaweed as a source of drugs for use in cancer chemotherapy. *J. Appl. Phycol.*, 26: 2211–2264.
- Nakamura, T., Nagayama, K., Uchida, K. & Tanaka, R. (1996) Antioxidant activity of phlorotannins isolated from the brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fisheries Sci.*, 62: 923–926
- Navarro, M.J. & Gallardo, T. (1989). Aportación al conocimiento de la flora bentónica de las costas mediterráneas africanas occidentales. *Bot. Complutensis*, 15: 203-214.
- Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2014). Marine-sourced anti-cancer and cancer pain control agents in clinical and late preclinical development. *Mar. Drugs*, 12: 255-278
- Newman, D.J. & Cragg, G.M. (2016). Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*, 79: 629-661
- Ngo, D.H. & Kim, S.K. (2013). Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. *Int. J. Biol. Macromol.*, 62: 70–75
- Nicolini, A., Carpi, A., Ferrari, P., Biava, P.M. & Rossi, G. (2016). Immunotherapy and hormone-therapy in metastatic breast cancer: A review and an update. *Curr. Drug. Targets*, 17: 1127–1139.
- Nikolaou, N., Pavlopoulou, A., Georgakilas, A.G. & Kyrodimos, E. (2018). The challenge of drug resistance in cancer treatment: A current overview. *Clin. Exp. Metastasis*, 35: 309–318.
- Nimse, S.B. & Palb, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.*, 5: 27986–28006.
- Norris, J.N. (2010). *Marine algae of the Northern Gulf of California: Chlorophyta and Phaeophyceae*. Smithsonian Contributions to Botany, California, 276 pp.
- Norris, J.N. (2014). *Marine algae of the northern Gulf of California II: Rhodophyta*. Smithsonian Contributions to Botany, No. 96. Smithsonian Institution Scholarly Press, Washington, DC, 555 pp.
- Norte, M., Sánchez, A. & González, G. (1993). Claraenone, a new meroditerpene from brown alga. *Tetrahedron Lett.*, 24: 3485–3486.
- Orellana, S., Hernández, M. & Sansón, M. (2019). Diversity of *Cystoseira sensu lato* (Fucales, Phaeophyceae) in the eastern Atlantic and Mediterranean based on morphological and DNA evidence, including *Carpodesmia* gen. emend. and *Treptacantha* gen. emend. *Eur. J. Phycol.*, 54:1-20.
- Ould-Ahmed, N., Gómez Garreta, A., Ribera Siguan, M.A. & Bouguedoura, N. (2013). Checklist of the benthic marine macroalgae from Algeria. I. Phaeophyceae. *Anal. Jard. Bot. Madrid*, 70(2): 136-143.

- Ozdemir, G., Horzum, Z., Sukatar, A. & Karabay-Yavasoglu, N.U. (2006). Antimicrobial activities of volatile components and various extracts of *Dictyopteris membranacea* and *Cystoseira barbata* from the coast of Izmir, Turkey. *Pharmac. Bio.*, 44(3): 183-188.
- Ozenda, P. (2000). *Les végétaux: Organisation et diversité biologique*. Dunod, Paris, 520 p.
- Panayotova, V. & Stancheva, M. (2013). Fat Soluble Vitamins and Fatty Acids Composition of Black Sea *Cystoseira Barbata*. In: CBU International Conference on Integration and Innovation in Science and Education. *Prague, Czech. Republic*, 362–367.
- Pangestuti, R. & Kim, S.K. (2011). Neuroprotective effects of marine algae. *Mar. Drugs*, 9: 803–818.
- Patterson, E., Wall, R., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. & Stanton, C. (2012). Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated Fatty acids. *J. Nutr. Metab.*, 539426. doi: 10.1155/2012/539426.
- Pellegrini, L. (1980). Cytological studies on physodes in the vegetative cells of *Cystoseira stricta* Sauvageau (Phaeophyta, Fucales). *J. Cell. Sci.*, 41: 209-231.
- Peng, Y., Hiu, J., Yang, B., Lin, X.-P., Zhou, X.-F., Yang, X.-W. & Liu, Y. (2015). Chemical composition of seaweeds. *Seaweed Sustainability-Food and-Non-Food Applications*, 1st ed.; Tiwari, B.K., Troy, D., Eds.; Elsevier: London, UK, 2015; pp. 79–124.
- Pereira, H., Barreira, L., Figueiredo, F., Custodio, L., Vizetto-Duarte, C., Polo, C., Resek, E., Engelen, A. & Varela, J. (2012). Polyunsaturated Fatty acids of marine macroalgae: potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Mar. Drugs*, 10: 1920-1935.
- Pereira, L. (2009). *Guia ilustrado das macroalgas—conhecer e reconhecer algumas espécies da flora Portuguesa (Illustrated guide of macroalgae—to know and recognize some species of Portuguese flora)*. Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal, 90 pp.
- Pereira, L. (2010a). *Littoral of Viana do Castelo—ALGAE (Bilingual)*. Câmara Municipal de Viana do Castelo, Portugal, 68 pp.
- Pereira, L. (2015). *Seaweed flora of the European North Atlantic and Mediterranean*. pp. 65–178. In: Se-Kwon Kim (ed.). *Springer Handbook of Marine Biotechnology*. Springer, Berlin Heidelberg.
- Pereira, L. (2016). *Edible seaweeds of the world*. Science Publishers, an Imprint of CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 453 p.
- Pereira, L. (2018). *Therapeutic and nutritional uses of algae*. CRC Press.
- Pérez, M.J., Falqué, E. & Domínguez, H. (2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Mar. Drugs.*, 14(3). pii: E52. doi: 10.3390/md14030052.14, 52.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, F.D. & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and benefits for human health. *Oxid. Med. Cell Longev.*, 1–13. doi: 10.1155/2017/8416763.

- Plaza, M., Amigo, M., Ibañez, E., Del Castillo, M.D. & Herrero, M. (2010). Neof ormation of antioxidants in glycation model systems treated under subcritical water extraction conditions. *Food Res. Int.*, 43: 1123-1129.
- PNUE-PAM-CAR/ASP, (2009). Report of Meeting of MED Pol Focal Points. UNEP (DEPI)/MED WG. 337/inf.6. Meeting of MAP Focal Points, Athens, Greece, 97 pp.
- Prud'homme van Reine, W.F., Haroun, R.J. & Kostermans, L.B.T. (2005). Checklists on seaweeds in the Atlantic Ocean and in the Cape Verde Archipelago. In: IV Simpósio Fauna e Flora das Ilhas Atlânticas, Praia 9-13 Setembro 2002. (Eds), pp. 13-26.
- Ragan, M.A. & Craigie, J.S. (1976). Physodes and the phenolic compounds of brown algae. Isolation and characterization of phloroglucinol polymers from *Fucus vesiculosus* (L.). *Can. J. Biochem.*, 54: 66-73.
- Ragonese, C., Tedone, L., Beccaria, M., Torre, G., Cichello, F., Cacciola, F., Dugo, P. & Mondello, L. (2014). Characterisation of lipid fraction of marine macroalgae by means of chromatography techniques coupled to mass spectrometry. *Food chem.*, 145: 932-940.
- Rebours, C., Marinho-Soriano, E., Zertuche-González, J.A., Hayashi, L., Vásquez, J.A., Kradolfer, P., Soriano, G., Ugarte, R., Abreu, M.U., Bay-Larsen, I. & Hovelsrud, G. (2014). Seaweeds: An opportunity for wealth and sustainable livelihood for coastal communities. *J. Appl. Phycol.*, 26: 1939–1951.
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M. & Aggarwal, B.B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic. Biol. Med.*, 49: 1603–1616.
- Riadi, H. & Kazzaz, M. (1998). Inventaire bibliographique des algues benthiques du littoral Marocain I. Chlorophyceae et Phaeophyceae. *Acta Bot. Malacit.*, 23: 23-41.
- Riadi, H. (2000). Etude de la flore marine benthique (Chlorophyceae et Pheophyceae) du détroit de Gibraltar et de la méditerranée occidentale marocaine (Floristique, chorologie, synécologie et biogéographie). PhD. Thesis, University Abdelmalek Essaadi - Faculty of Sciences Tetouan, Morocco. 158 p+ Pls.
- Riadi, H., Kazzaz, M. & Ater, M. (2000). Contribution à la connaissance des algues marines benthiques du detroit de Gibraltar et de la mediterrannée occidentale marocaine: I. Chlorophyceae et phaeophyceae. *Acta Bot. Malacit.*, 25: 5-20.
- Riadi, H., Salhi, G., Bouksir, H., Moussa, H. & Hassoun, M. (2013). *Acrosymphyton purpuriferum* (J. Agardh) Sjöstedt et *Balliella cladoderma* (Zanardini) Athanasiadis, deux nouvelles espèces d'algues benthiques de la Méditerranée Marocaine. *Bull. Inst. Sci. Vie Rabat*, 35: 9–14.
- Roberts, M. (1967). Studies on marine algae of the British Isles. 3. The genus *Cystoseira*. *British Phycol. Bull.*, 3: 345-366.
- Rodríguez-Prieto, C., Ballesteros, E., Boisset, F. & Afonso-Carrillo, J. (2013). *Guía de las macroalgas y fanerógamas marinas del Mediterráneo occidental*. Omega, Barcelona. 496 p.

- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F.J., Saljoughian, S., Amid, M. & Greiner, R. (2017). Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health related beneficial properties. *Food Res. Int.*, 99: 1066–1083.
- Ruan, B.F., Ge, W.W., Lin, M.X. & Li, Q.S. (2018). A Review of the components of seaweeds as potential candidates in cancer therapy. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 18: 354–366.
- Ruiz-Torres, V., Encinar, J.A., Herranz-López, M., Pérez-Sánchez, A., Galiano, V., Barrajon-Catalán, E. & Micol, V. (2017). An updated review on marine anticancer compounds: The use of virtual screening for the discovery of small-molecules cancer drugs. *Molecules*, 22: E1037. doi: 10.3390/molecules22071037.
- Salhi, G., Hassoun, M., Moussa, H., Zbakh, H., Kazzaz, M. & Riadi, H. (2019). First record of the red alga *Tiffaniella gorgonea*: an introduced species in the Mediterranean Sea. *Bot. Mar.*, 62(2): 161-165.
- Salhi, G., Zbakh, H., Moussa, H., Hassoun, M., Bochkov, V., Ciudad, C. J., Noé, V. & Riadi, H. (2018). Antitumoral and anti-inflammatory activities of the red alga *Sphaerococcus coronopifolius*. *Europ. J. Integ. Med.*, 18: 66-74.
- Sauvageau, C. (1913). Sur les Fucacées du détroit de Gibraltar. *C. R. Acad. Sci.* 157: 1–3.
- Schoenwaelder, M.E. (2008). The biology of phenolic containing vesicles. *Algae*, 23(3): 163-175.
- Seca, A.M.L. & Pinto, D.C.G.A. (2018). Plant secondary metabolites as anticancer agents: Successes in clinical trials and therapeutic application. *Int. J. Mol. Sci.*: 19, E263. doi: 10.3390/ijms19010263.263.
- Senapati, S., Mahanta, A.K., Kumar, S. & Maiti, P. (2018). Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduct. Target Ther.*, 3: 1–18. doi: 10.1038/s41392-017-0004-3.
- Seo, Y., Park, K.E. & Nam, T.J. (2007). Isolation of a new chromene from the brown alga *Sargassum thunbergii*. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 28: 1831–1833
- Shannon, E. & Abu-Ghannam, N. (2016). Antibacterial derivatives of marine algae: An overview of pharmacological mechanisms and applications. *Mar. Drugs*, 14: 1–23
- Sharma, O.P. (2011). *Algae: Diversity of microbes and cryptogams*. Tata McGraw Hill Education, New Delhi, 389 p.
- Shibata, T., Ishimaru, K., Kawaguchi, S., Yoshikawa, H. & Hama, Y. (2008) Antioxidant activities of phlorotannins isolated from Japanese Laminariaceae. *J. Appl. Phycol.*, 20: 705–711.
- Silberfeld, T., Rousseau, F. & de Reviers, B. (2014). An updated classification of brown algae (Ochrophyta, Phaeophyceae). *Cryptogam. Algol.*, 35(2): 117-157.
- Silva, P.C., Basson, P.W. & Moe, R.L. (1996). *Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean* (Vol. 79). Univ of California Press. 1259 p.

- Smith, G.M. (1944). *Marine algae of the Monterey Peninsula, California*. Stanford University Press, Stanford, 622 pp
- Sonani, R.R., Rastogi, R.P. & Madamwar, D. (2017). Natural antioxidants from algae: A Therapeutic Perspective. *Algal Green. Chem.*, 91–120.
- Souhaili, Z., Lagzouli, M., Faid, M. & Fellat-Zerrouck, K. (2004). Inhibition of growth and mycotoxins formation in moulds by marine algae *Cystoseira tamariscifolia*. *Afr. J. Biotech.*, 3(1): 71-75.
- Souhaili, Z., Mohammadi, H., Habti, N. & Faid, M. (2008). Effet létal de l'extrait aqueux de l'algue brune marine (*Cystoseira tamariscifolia*) sur la souris et sur les cellules tumorales du myélome murin. *Afric. Sci.*, 4(3): 580-590.
- Stengel, D.B. & Connan, S. (2015). *Marine algae: a source of biomass for biotechnological applications*. In Natural products from marine algae (pp. 1-37). Humana Press, New York, NY.
- Stiger-Pouvreau, V., Jégou, C., Cérantola, S., Guérard, F. & Le Lann, K. (2014). Phlorotannins in Sargassaceae species from Brittany (France): interesting molecules for ecophysiological and valorisation purposes. *Bot. Res.*, 71: 379-411.
- Sun, W. (2017). Recent advances in cancer immunotherapy. *J. Hemat. Oncol.*, 10, 96. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0460-9>.
- Sun, Y., Hou, S., Song, S., Zhang, B., Ai, C., Chen, X. & Liu, N. (2018). Impact of acidic, water and alkaline extraction on structural features, antioxidant activities of *Laminaria japonica* polysaccharides. *Int. J. Biol. Macromol.*, 112: 985–995.
- Target, N.M. & Arnold, T.M. (2001). Effects of secondary metabolites on digestion in marine herbivores. In: *Marine Chemical Ecology*; McClintock, J.B., Baker, B.J., Eds.; CRC Press: Florida, FL, USA, 2001; pp. 391–411.
- Taşkın, E., Jahn, R., Öztürk, M., Furnari, G. & Cormaci, M. (2012). The Mediterranean *Cystoseira* (with photographs). Manisa: Celar Bayar University, Turkey.
- Taşkın, E., Öztürk, M., Kurt, O. & Öztürk, M. (2008). The check-list of the marine algae of Turkey. *Phycologia*, 40(4): 71-71.
- Taylor, R.W. & Turnbull, D.M. (2005). Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat. Rev. Genet.*, 6: 389-402
- Tehler, A. (1996). Systematics, phylogeny and classification. *Lichen biology*, 217-239.
- Thangapazham, R.L., Sharma, A. & Maheshwari, R.K. (2006)-. Multiple molecular targets in cancer chemoprevention by curcumin. *AAPS J.*, 8 (3): 443-449.
- Thomas, N.V. & Kim, S.K. (2011). Health beneficial aspects of phloroglucinol derivatives from marine brown algae. *Hand. Mar. Macroalg.*, 12: 378-386.
- Thomas, N.V. & Kim, S.K. (2013) Beneficial effects of marine algal compounds in cosmeceuticals. *Mar. Drugs*, 11: 146–164

- Torre, L.A., Siegel, R.L., Ward, E.M. & Jemal, A. (2015). Global cancer incidence and mortality rates and trends—An Update. *Cancer Epidemiol. Biomarker. Prev.*, 25: 16–27
- Urones, J.G., Araújo, M.E.M., Brito Palma, F.M.S., Basabe, P., Marcos, I.S., Moro, R.F., Lithgow, A.M. & Pineda, J. (1992a). Meroterpenes from *Cystoseira usneoides* II. *Phytochemistry*, 31: 2105–2109.
- Urones, J.G., Basabe, P., Marcos, I.S., Pineda, J., Lithgow, A.M., Moro, R.F., Brito Palma, F.M.S., Araújo, M.E.M. & Graválos, M.D.G. (1992b). Meroterpenes from *Cystoseira usneoides*. *Phytochemistry*, 31: 179–182.
- Valls, R., Mesguiche, V., Piovetti, L., Prost, M. & Peiffer, G. 1996. Meroditerpenes from the brown alga *Cystoseira amentacea* var. *stricta* collected off the French mediterranean coast. *Phytochemistry*, 41: 1367-1371.
- Vizetto-Duarte, C., Custódio, L., Gangadhar, K.N., Lago, J.H.G., Dias, C., Matos, A.M., Neng, N., Nogueira, J.M.F., Barreira, L., Albericio, F. & Rauter, A.P. (2016a). Isololiolide, a carotenoid metabolite isolated from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*, is cytotoxic and able to induce apoptosis in hepatocarcinoma cells through caspase-3 activation, decreased Bcl-2 levels, increased p53 expression and PARP cleava. *Phytomedicine.*, 23: 550–557.
- Vizetto-Duarte, C., Custódio, L., Acosta, G., Lago, J.H.G., Morais, T.R., Bruno de Sousa, C., Gangadhar, K.N., Rodrigues, M.J., Pereira, H., Lima, R.T. & Vasconcelos, M.H. (2016b). Can macroalgae provide promising anti-tumoral compounds? A closer look at *Cystoseira tamariscifolia* as a source for antioxidant and anti-hepatocarcinoma compounds. *PeerJ*, 16;4:e1704. doi: 10.7717/peerj.1704.
- Vizetto-Duarte, C., Pereira, H., De Sousa, CB., Rauter, AP., Albericio, F., Custódio, L., Vizetto-Duarte, C., Pereira, H., Bruno de Sousa, C., Pilar Rauter, A., Albericio, F., Custódio, L., Barreira, L. & Varela, J. (2015). Fatty acid profile of different species of algae of the *Cystoseira* genus: A nutraceutical perspective. *Nat. Prod. Res.*, 29: 1264–1270.
- Wang, H., Liu, Y.M., Qi, Z.M., Wang, S.Y., Liu, S.X., Li, X., Wang, H.J. & Xia, X.C. (2013). An overview on natural polysaccharides with antioxidant properties. *Curr. Med. Chem.*, 20: 2899–2913.
- Wang, L., Wang, X., Wu, H. & Liu, R. (2014). Overview on biological activities and molecular characteristics of sulfated polysaccharides from marine green algae in recent years. *Mar. Drugs*, 12: 4984–5020.
- Ward, O.P. & Singh, A. (2005). Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production. *Process Biochemistry*, 40(12): 3627-3652.
- Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell K.E., Smith, A.G., Camire, M.E. & Brawley, S.H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J. Appl. Phycol.*, 29: 949–82.
- Werner, R.G. (1956). Réflexions au sujet de la zonation au Maroc. *Bull. Soc. Sci. Nat. Phys.*, Maroc 36(4): 319-333

- Wijesekara, I., Pangestuti, R. & Kim, S.K. (2011) Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydr. Polym.*, 84: 14–21.
- Wu, J.Q., Kosten, T.R. & Zhang, X.Y. (2013). Free radicals, antioxidant defense system, and schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 46: 200–206
- Yoon, N. Y., Lee, S.-H., Wijesekara, I. & Kim, S.-K. (2011). In vitro and intracellular antioxidant activities of Brown alga *Eisenia bicyclis*. *Fish. Aqua. Sci.*, 14: 179–185
- Yoon, N.Y., Lee, S-H., Yong, L. & Kim S-K. (2009) Phlorotannins from *Ishige okamurae* and their acetyl- and butyrylcholinesterase inhibitory effects. *J. Funct.l Foods*, 1(4). 331–335.
- Zbakh, H. (2014). Recherche exploratoire de substances actives en pharmacologie antibactérienne, antitumorale, anti-oxydante et anti-inflammatoire à partir d'algues marines de la côte méditerranéenne marocaine. PhD. Thesis, University Abdelmalek Essaadi - Faculty of Sciences Tetouan, Morocco. 317 pp.
- Zbakh, H., Chiheb, H., Bouziane, H., Sánchez, V.M. & Riadi, H. (2012). Antibacterial activity of benthic marine algae extracts from the Mediterranean coast of Morocco. *J. Microbio. Biotech. Food Sci.*, 2(1): 219-228.
- Zbakh, H., Chiheb, I., Motilva, V. & Riadi, H. (2014a). Antibacterial, cytotoxic and antioxidant potentials of *Cladophora prolifera* (Roth) Kutzing collected from the Mediterranean coast of Morocco. *AJPCT*, 2(10): 1187-1199.
- Zbakh, H., Zubia, E., Riadi, H., El-Abbassi, A. & Motilva, V. (2014b). WITHDRAWN: Antitumoral, anti-inflammatory and antioxidant activities of the brown alga *Cystoseira usneoides* (Linnaeus) Roberts 1968. *Europ. J. Integr. Medic.*, 378. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2014.12.001>.
- Zbakh, H., Salhi, G., Moussa, H. & Riadi, H. (2014c). Cytotoxic and antioxidant activities of the red seaweed *Halophytys incurva*. *Internat. J. Advanc. Pharma. Biol. Chem.*, 3(4): 1043-1047.
- Zbakh, H., Talero, E., Avila, J., Alcaide, A., de los Reyes, C., Zubía, E. & Motilva, V. (2016). The algal meroterpene 11-hydroxy-1'-o-methylamentadione ameloriates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Mar. drugs*, 14(8): E149. doi: 10.3390/md14080149.149.
- Zenthofer, M., Geisen, U., Hofmann-Peiker, K., Fuhrmann, M., Kerber, J., Kirchhöfer, R., Hennig, S., Peipp, M., Geyer, R., Piker, L. & Kalthoff, H. (2017). Isolation of polyphenols with anticancer activity from the Baltic Sea brown seaweed *Fucus vesiculosus* using bioassay-guided fractionation. *J. Appl. Phycol.*, 29: 2021–2037.
- Zubia, M., Fabre, M.S., Kerjean, V., Lann, K.L., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M. & Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chem.*, 116: 693–701.

Chapitre 2

DESCRIPTION DE L' AIRE D'ÉTUDE: PARC NATIONAL D'AL HOCEIMA (PNAH)



2.1. Bref Aperçu historique du PNAH

L'importance écologique et biologique de la partie nord-est de la méditerranée marocaine a suscité la curiosité et l'intervention de plusieurs acteurs des différents domaines et cela durant plusieurs années. Après plusieurs remaniements, un plan directeur d'aménagement et de gestion de cette zone côtière a été publié en 1993 (METAP/Plan Bleu & SECA). L'élaboration du plan de gestion de la partie marine fut lancée en 2002, suivi par la création du Parc National d'Al Hoceima par décret Royal (n°2.04.781 du 8 octobre 2004) (Franzolini & Limam 2004).

Vu l'étendue du PNAH et son importance à la fois nationale et internationale, la mise en place d'une aire spécialement protégées d'importance méditerranéenne (ASPIM) a été recommandée (PNUE-PAMCAR/ASP 2009).

Le statut d'ASPIM au PNAH a été officialisé en novembre 2009 à Marrakech lors de la réunion des parties contractantes de la convention de Barcelone. Ainsi, la Méditerranée s'est dotée d'une nouvelle ASPIM qui venait d'enrichir la liste des sites existants. Jusqu'à nos jours, 35 sites sont inscrits comme ASPIM (Figure 2.1).

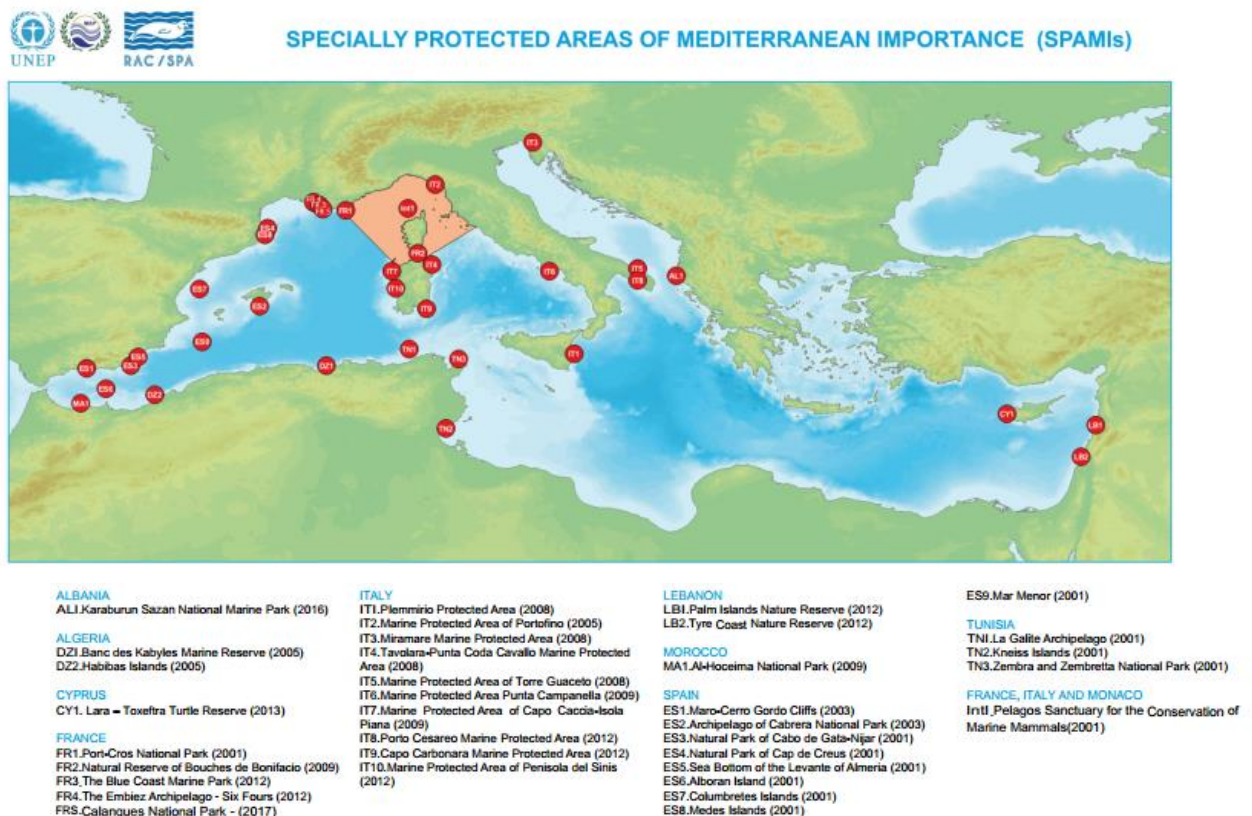


Figure 2.1. Répartition des 35 ASPIM sur la mer Méditerranée (RAC/SPA 2017).

2.2. Objectifs de la création et de la gestion de la partie marine du PNAH

La création du PNAH visait plusieurs objectifs, parmi lesquels, la sauvegarde d'échantillons représentatifs du patrimoine naturel de la façade méditerranéenne du Maroc, tant terrestre que marine ; le maintien des équilibres naturels et des processus écologiques vitaux ; la préservation de la diversité biologique et de la complémentarité des habitats naturels de l'ensemble du Parc; la mise en place de conditions particulières pour un développement local et une amélioration des conditions de vie des riverains, par la réalisation de programmes de développement intégré et participatif (UICN/MED & SEO/BirdLife 2012).

Pour la gestion de la biodiversité marine du Parc, le gouvernement s'est inspiré des définitions internationales notamment celles adoptées par l'UICN (2012).

En effet, le Parc National d'Al-Hoceima (PNAH) répond aux caractéristiques générales fixées par l'article 8 du Protocole ASP/DB pour l'inscription sur la liste des ASPIM (UNEP/MAP 2009; UNEP-MAP & RAC/SPA 2009):

- Il abrite des espèces endémiques ou menacées d'extinction à l'échelle de la Méditerranée, en particulier: Trois algues brunes (*Cystoseira amantacea* var. *stricta*, *Cystoseira zosteroides*, *Laminaria rodriguezii*), le corail orange *Asteroides calycularis*, les deux mollusques: *Patella ferruginea* et le plus grand coquillage bivalve de la Méditerranée *Pinna nobilis*, la tortue marine *Caretta caretta* et le grand cormoran *Phalacrocorax aristotelis*, etc.
- Il renferme des écosystèmes spécifiques à la Méditerranée tels que les associations à *Cystoseira amantacea* et des formations coralligènes.
- Il présente des habitats critiques pour les espèces en voie de disparition, menacées ou endémiques, à savoir des habitats favorables (grottes appropriées) au phoque moine, des îlots marins hébergeant la patelle géante et le goéland d'Audouin et des falaises pour la reproduction et la nidification du balbuzard pêcheur.
- Il est sujet d'un intérêt scientifique manifeste qui se traduit par la présence de formations coralligènes très remarquables tant au plan richesse que distribution spatiale, la présence de grottes sous-marines et des espèces ombrophiles ; un intérêt esthétique englobant la présence de falaises tombantes, des îles et des îlots, de plages et de baies spectaculaires et attrayantes, ainsi que des paysages à l'intérieur du PNAH offrant également un panorama remarquable par la rondeur des collines séparées par des vallées assez larges. A cette riche diversité biologique et paysagère s'ajoute un indéniable intérêt culturel et éducatif.

2.3. Situation géographique du Parc National d'Al-Hoceima (PNAH)

Le Parc National d'Al Hoceima est situé au Nord du Maroc, sur la façade méditerranéenne, à environ 150 Km à l'est du Déroit de Gibraltar (**Figure 2.2**). Il comprend une aire marine de 19.600 ha, avec 40 Km de côte et une partie terrestre de 28.400 ha qui incorporent une grande diversité biologique et des espaces naturels parmi les mieux préservés en Méditerranée ([Ibn Tattou *et al.*, 2014](#)). Avec sa position sur le massif calcaire des Bokkoya, le Parc offre des paysages spectaculaires et des écosystèmes regroupant une végétation naturelle caractéristique et des espèces animales des plus remarquables ([UICN/MED & SEO/BirdLife 2012](#)).

Le PNAH se localise en plein cœur du Rif central qui n'est autre que le prolongement de la cordillère Bétique du sud de l'Espagne. Sa situation latitudinale, sa géologie, son orographie et son exposition aux influences maritimes humides représentent les principaux facteurs de son originalité naturelle ([UICN 2012](#)).



Figure 2.2. Carte de localisation géographique du Parc National d'Al-Hoceima
(Réalisation, M. Hassoun)

2.4. Géomorphologie côtière de PNAH

De point de vue morphologique, le paysage littoral du PNAH est typiquement dominé par une côte rocheuse très sauvage avec des falaises escarpées, d'une hauteur se rapprochant parfois de 600 mètres, espacées par de petites baies de sables correspondant en général aux embouchures des oueds. Sur le long du trait de côte protégé, on trouve des grottes et des ouvertures sous-marines peu profondes sous forme de siphons (UICN 2012).

La géomorphologie de la partie côtière du Parc présente des traits originaux, probablement grâce à des raisons structurales, lithologiques et aussi par le fort hydrodynamisme. Ainsi, la partie maritime du PNAH est subdivisée en trois entités morphologiques (UICN 2012):

- (A) Les grandes falaises vives homogènes, recoupant des roches calcaires et dolomitiques des Bokkoya: Elles sont très hautes et verticales. A leur base, existe des ouvertures sous forme des grottes se terminant par des éboulis et des petites plages (**Figure 2.3. A**).
- (B) Les falaises hétérogènes à glissements et éboulement sur les parois: Sont des falaises à pente faible à moyenne, qui apparaissent sur des terrains flyschöide relativement tendres entre Cala Iris et Badis et un faciès schisto-argilo-calcaire du Primaire à l'est de la pointe de Boussekour et dans le secteur de Taoussert (**Figure 2.3. B**).
- (C) Les plages: Au niveau du PNAH, les plages sont assez rares et peu étendues. Elles se présentent seulement dans les zones protégées des baies, telles que les plages de Cebadilla ou Tala Youssef, ou forment des tombolos comme à Cala-Iris et Badis. Les autres plages de la côte sont basses est formées surtout de galets et graviers avec peu de sables grossiers, comme la plage de Badès, Cala-Iris, Torrès, Tikkit, Boussekour et Boumahdi (**Figure 2.3. C, D**).



Figure 2.3. Les trois types géomorphologiques de la façade maritime de PNAH (A) Les falaises homogènes; (B) Les falaises hétérogènes; (C) Plage de Badis et (D) Plage de Izdhy) (Photos: G.PMA).

2.5. Climatologie

La région du PNAH est caractérisée par un climat méditerranéen sec avec des étés chauds et des hivers doux. Les températures estivales sont en moyenne de 28.5°C et les hivernales de 10°C. En dépit de leur faible abondance (300 mm/an), les précipitations sont violentes et causent occasionnellement des dégâts considérables. D'ailleurs, le passage de grandes perturbations avec des précipitations souvent intenses en hiver accentue et aggrave les faciès d'érosion, de sorte que la région du Rif est considérée comme l'une des plus érodées à l'échelle mondiale, 70% de ses sols étant affectés par ce phénomène (UICN 2012).

2.6. Océanologie

La façade sud de la mer d'Alboran, précisément la façade méditerranéenne marocaine est caractérisée par des plages limitées sous forme de criques à accès généralement difficile à impossible et souvent exposée au vent Charki (Chergui). Le bassin méditerranéen a une profondeur moyenne de 1500 m (Miller 1983).

Concernant la circulation générale des masses d'eau, c'est la différence de densité entre le bassin méditerranéen occidental, d'une part, et le bassin atlantique et méditerranéen oriental d'autre part, qui est responsable des transports moyens des masses d'eau via le Détroits de

Gibraltar et la Sicile, et participe au forçage de la circulation cyclonique des masses d'eau superficielle et intermédiaire sur la totalité du bassin occidental (**Figure 2.4**) (MedMPA 2004).

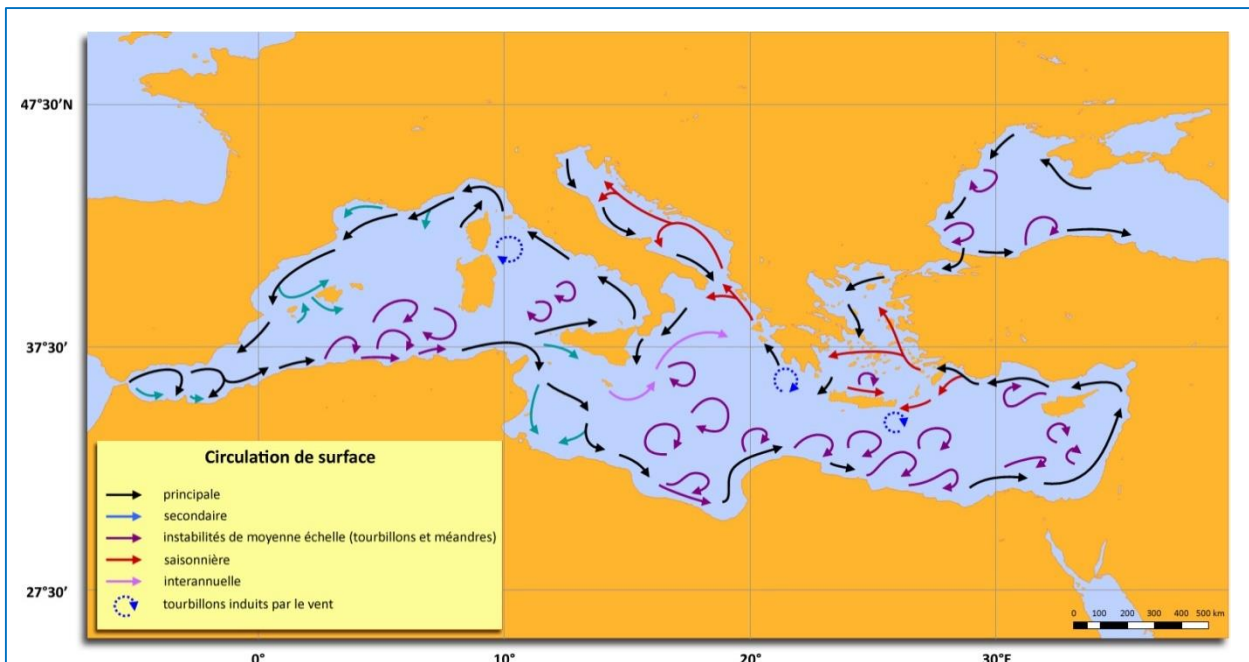


Figure 2.4. Circulation générale de surface dans la mer Méditerranée (Millot & Taupier 2005).

Les courants du secteur Ouest-Nord-Ouest du bassin sont fréquemment liés aux houles, celles-ci se développent surtout au niveau de la côte, avec un fetch court et un effet minimal sur la sédimentation. Le secteur Nord-Est à Est-Nord-Est est spécialement à prendre en considération, car à ce niveau les houles ont un fetch important et mieux développé.

La Méditerranée est considérée comme une mer calme à marées de faible amplitude, dont le gradient se réduit vers l'Est, conséquence de la marée atlantique. Au niveau du littoral de PNAH, les marées sont de type semi-diurne, caractérisées par une amplitude relativement faible, de l'ordre de 0,90 mètre en vives eaux (Tunesi *et al.*, 2003).

2.7. Biodiversité du Parc National d'Al-Hoceima

La situation biogéographique particulière du PNAH, et la variété des terrains, des substrats et des climats, entraînent une richesse exceptionnelle de la flore et de la faune, avec une extraordinaire complexité qui confère à cet espace toute son originalité.

2.7.1. Flore du PNAH

Environ 110 espèces de végétaux terrestres ont été relevées au niveau du PNAH. Les espèces marines, notamment les algues et les phanérogames n'ont été identifiées qu'au niveau du littoral du PNAH (UICN 2012). D'autres travaux demeurent nécessaires pour compléter la liste spécifique du Parc.

L'influence océanique au niveau du Parc se caractérise par une combinaison d'espèces à affinité Atlantico-Méditerranéennes, telles que les prairies de *Cystoseira* sp, *Sacchoriza polyschides*, *Laminaria ochroleuca* (environ 50 m de profondeur), *Laminaria rodreguizii* et *Phyllariopsis purpurascens* (UICN 2012).

2.7.2. Faune du PNAH

Selon les données du Haut-Commissariat des Eaux et Forêt (HCEFLCD), l'avifaune représente le groupe ornithologique le plus connu dans cet espace naturel. Environ 100 espèces d'oiseaux identifiés à nos jours.

La partie marine comprend la majorité des biocénoses méditerranéennes qui abritent des éponges, des cœlentérés, des bryozoaires, des cténophores, des crustacés, des annélides, des mollusques, des échinodermes, des ascidies, des poissons osseux, des requins, des dauphins et des tortues marines.

2.7.3. Habitats et espèces d'intérêt pour la conservation

- **Habitats protégés**

Les paysages marins du PNAH révèlent une diversité très remarquable, particulièrement entre l'étage médiolittoral et infralittoral, essentiellement sur substrats rocheux. Plusieurs habitats du Parc jouissant d'importance pour la conservation en Méditerranée sont listés dans de nombreuses conventions internationales (**Tableau 2.1**). Ces habitats sont en particulier les biocénoses coralligènes et les forêts des fucales.

Tableau 2.1. Habitats sensibles de la Méditerranée observés dans le PNAH. Abondance relative des habitats: Commun (C), Non-Commun (NC) ou Occasionnel (O) (UNEP-MAP RAC/SPA 2009).

HABITAT	ABONDANCE DANS LE SITE
	(C) (NC) (O)
Biocénose de la roche médiolittorale supérieure :	
Association à <i>Lithophyllum byssoides</i>	(C)
Biocénose de la roche médiolittorale inférieure :	
Association à <i>Polysiphonia</i> sp	(C)
Concrétionnement à <i>Neogoniolithon brassica-florida</i>	(C)
Biocénose infralittorale des sables grossiers et fins graviers brassés par les vagues :	
Association à Rhodolithes	(NC)
Biocénose infralittorale des sables grossiers et fins graviers sous influence des courants de fond :	
Fasciés de Maërl	(NC)
Association à Rhodolithes	(NC)
Biocénose des algues infralittorales :	
Association à <i>Cystoseira amentacea</i>	(C)
Association à <i>Cystoseira tamariscifolia</i> et <i>Saccorhiza polyschides</i>	(C)
Association à <i>Cystoseira crinita</i>	(C)
Association à <i>Cystoseira crinitophylla</i>	(C)
Association à <i>Cystoseira sauvageauana</i>	(C)
Association à <i>Sargassum vulgare</i>	(C)
Faciès et association de la biocénose Coralligène (en enclave)	(NC)
Biocénose coralligène :	
Association à <i>Cystoseira zosteroides</i>	(C)
Association à <i>Cystoseira usneoides</i>	(C)
Association à <i>Sargassum</i> sp (indigène)	(C)
Association à <i>Laminaria ochroleuca</i>	(C)
Faciès à <i>Eunicella cavolinii</i>	(C)
Faciès à <i>Eunicella singularis</i>	(C)
Faciès à <i>Paramuricea clavata</i>	(C)
Coralligène en plateau (Plateforme coralligène)	(NC)
Grottes semi-obscures (également en enclave dans les étages supérieures)	
Faciès à <i>Corallium rubrum</i>	(O)

- **Espèces d'algues protégées**

D'après les résultats du projet MEDMPA (2004), le PNAH abrite 12 espèces communes d'algues d'intérêt pour la conservation en Méditerranée (**Tableau 2.2**).

Tableau 2.2. Espèces d'intérêt pour la conservation en Méditerranée observées dans le PNAH (UNEP-MAP RAC/SPA 2009, modifié).

Phyllum	LR	EU	CBa	CBe	IUCN	CITES	Abondance réel (C) (NC) (O)	Statut global (r) (e) (m)
MACROPHYTA								
Ochrophyta								
<i>Cystoseira amentacea</i>	+		II	I	+		(C)	(m)
<i>Cystoseira elegans</i>	+				+		(C)	(m)
<i>Cystoseira zosteroides</i>	+		II	I	+		(C)	(m)
<i>Laminaria ochroleuca</i>	+			I	+		(C)	(m)
<i>Laminaria rodriguezii</i>	+		II	I	+		(C)	(m)
<i>Phyllariopsis brevipes</i>					+		(C)	(m)
<i>Phyllariopsis purpurascens</i>	+				+		(C)	(r) (m)
<i>Saccorhiza polyschides</i>	+				+		(C)	(m)
<i>Sargassum vulgare</i>					+		(C)	(m)
<i>Zonaria tournefortii</i>					+		(C)	(m)
Rhodophyta								
<i>Lithophyllum byssoides</i>	+		II	I	+		(C)	(m)
<i>Peyssonnelia squamaria</i>					II		(C)	(m)

(LR): Livre rouge de Méditerranée (Boudouresque 1990); (EU) : Directive Habitat de l'Union Européenne (1992); (CBa) Plan d'Action pour la Méditerranée, Convention de Barcelone (1995); (CBe): Convention de Berne (1996); (UICN): Union Internationale pour la Conservation de la Nature; (CITES): Convention sur le Commerce des espèces de faune et flore sauvages menacées d'extinction; Abondance relative des espèces: Commune (C), Non-Commune (NC) ou Occasionnelle (O); Statut global des espèces: Rare (r), Endémique (e) et/ou Menacé (m).

2.8. Description générale des sites d'étude

L'étude de la flore marine, des 40 km du littoral du PNAH, a concerné sept sites d'échantillonnage entre 2012 et 2015 (**Figure 2.5**). La sélection des stations a été basée sur l'accessibilité par terre ou par mer et sur la diversité algale de la fraction rocheuse. Dans certaines stations, les collectes ont nécessité des plongées par scaphandre autonome, jusqu'à 15m de profondeur, d'autres ont été réalisées en plongée en apnée dans les zones littorales, semi-littorales et sublittorales rocheuses (0 à 2 m de profondeur).

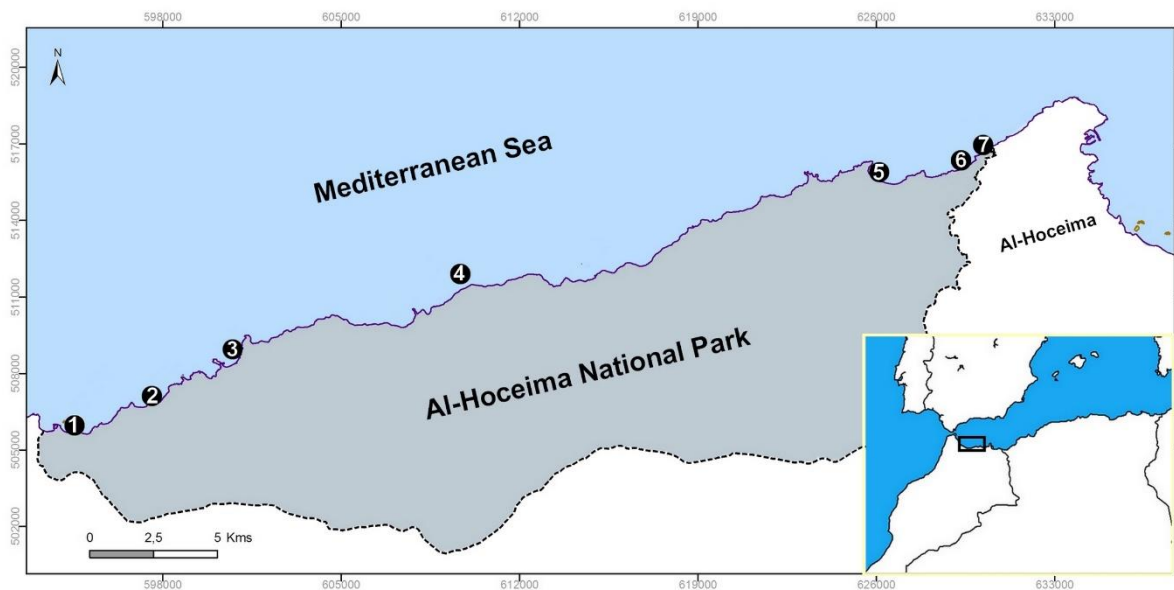


Figure 2.5. Répartition géographique des sites d'échantillonnage le long de la côte du Parc National d'Al-Hoceima: 1- Cala Iris, 2- Torres, 3- Badis, 4- Topo, 5- Boumehdi, 6- Tala Youssef, 7- Rmod (Réalisation, M. Hassoun).

2.8.1. Site de Cala iris

La station de Cala Iris ($35^{\circ}08'53.0''N$ $4^{\circ}21'56.4''W$) représente la limite Ouest du Parc situé à environ 54 km de la ville d'Al-Hoceima (**Figure 2.6**). Le site possède des falaises tendres, à matériel flyschöide, des plages sableuses et de galets, des îlots et un petit port de pêche.

L'échantillonnage des algues a été réalisé au pied de la falaise, sur une partie du littoral garnie d'énormes blocs de roches très avancés en mer. Les roches proviennent de la nappe de Tisirène, formée essentiellement de terrains marno-calcaires et du grès du Crétacé inférieur.

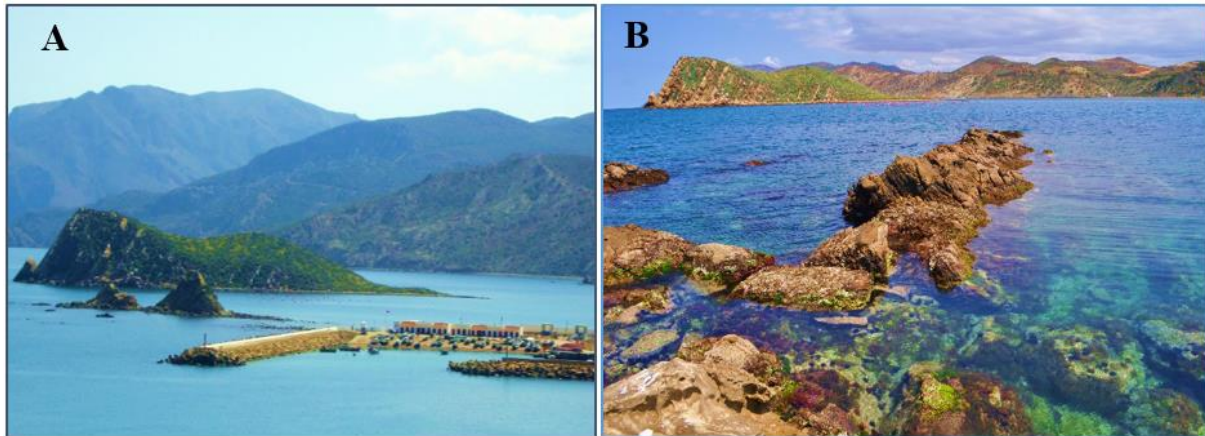


Figure 2.6. (A) Vue panoramique de site Cala Iris; (B) La zone échantillonnée du site
(Photos: G. PMA)

2.8.2. Site de Torres

Le littoral de Torres ou encore Torres de Alcalà est situé à environ 4 km à l'est de Cala Iris ($35^{\circ}09'25.1''\text{N}$, $4^{\circ}20'01.6''\text{W}$) (**Figure 2.7**), il se caractérise par la présence d'une plage de sable et de galets, interrompue par des falaises assez hautes et abruptes formées de grès en bancs épais.



Figure 2.7. (A) Site de Torres; (B) Formations caractérisant le littoral de Torres
(Photos: G. PMA).

2.8.3. Site de Badis

Le site de Badis (ou le Peñón de Vélez de la Gomera) est situé à environ 50 Km à l'ouest de la ville d'AL Hoceima ($35^{\circ}10'34.7''\text{N}$ $4^{\circ}17'20.1''\text{W}$). La plage est localisée à la limite des falaises inaccessibles du massif des Bokkoya. Elle est façonnée par des sables, graviers et galets, à proximité d'une péninsule rocheuse (**Figure 2.8**). Les falaises à matériel dolomitique, sont raides moyennement hautes et homogènes.

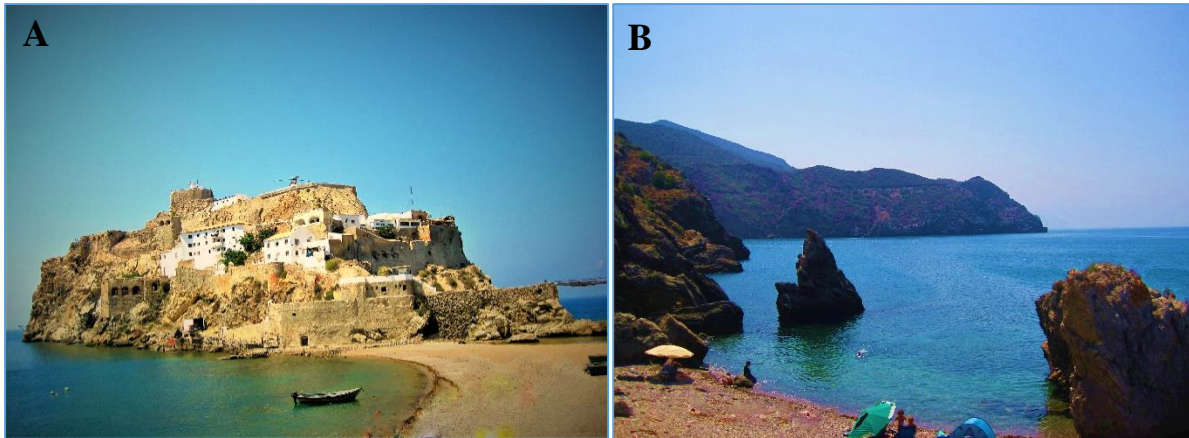


Figure 2.8. (A) zone Este de Badis et (B) Zone ouest de site (Photos: G. PMA).

2.8.4. Site de Topo

La station de Topo située au milieu du Parc National d'Al-Hoceima ($35^{\circ}11'56.5''N$ $4^{\circ}11'21.7''W$), n'est accessible que par mer. L'échantillonnage a nécessité la plongée par scaphandre autonome jusqu'à 15 m de profondeur (**Figure 2.9**). Les falaises de cette côte sont très hautes, homogènes à matériel dolomitique. Elles se caractérisent par la présence des encoches basales qui dépassent parfois les deux mètres.

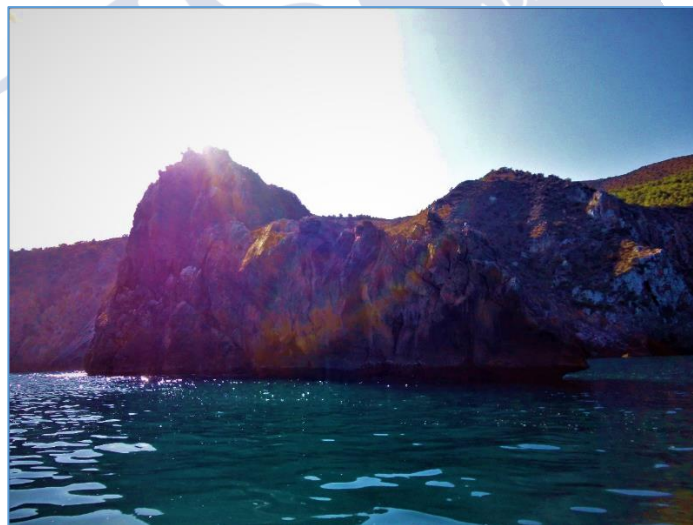


Figure 2.9. Site de Topo situé dans la zone centrale du Parc (Photos: G. PMA).

2.8.5. Site de Boumehdi

La plage de Boumehdi est localisée à environ 8 km à l'est d'Al-Hoceima ($35^{\circ}14'16.8''N$ $4^{\circ}01'03.8''W$). Elle se distingue par des falaises à matériel hétérogène de faible pente, avec une base à éboulis et blocs de roches (**Figure 2.10**). Cette plage se prolonge sous la mer par des fonds meubles à pentes assez douces, formées surtout de sables moyens et fins.



Figure 2.10. Site de Boumehdi avec éboulis et blocs de roches (Photos: G. PMA).

2.8.6. Site de Tala Youssef

Le littoral de Tala Youssef est situé à proximité de la ville d'Al Hoceima à environ 4 km de distance ($35^{\circ}14'11.7''N$ $3^{\circ}58'55.5''W$). Il s'étend sur une longueur de 1000 m, très connu pour la qualité de ses plages et son accessibilité (**Figure 2.11. A**). Cette unité de la côte est composée de plages à graviers ou de sables grossiers (**Figure 2.11. B**), et de trottoirs calcaires à silex (**Figure 2.11. C, D**).



Figure 2.11. (A) Site de Tala Youssef; (B) Plages à graviers; (C) et (D) Roches et trottoirs caractérisant le site (Photos: G. PMA).

2.8.7. Site de Rmod

La station de Rmod représente la limite Est du PNAH (35°14'41.5"N, 3°57'55.7"W). C'est une partie du Parc qui s'éloigne d'environ 38 Km de la station Cala Iris (**Figure 2.12. A**). Elle est caractérisée par la présence de grands blocs de roches séparant deux criques de sable. Ces roches sont formées de calcaire à silex du Lias supérieur-Jurassique supérieur. Elles se terminent par un plateau qui plonge dans les eaux de la Méditerranée; ce sont des trottoirs à vermetés marqués par des chenaux et des cuvettes (**Figure 2.12 B-D**).



Figure 2.12. (A) Vue générale de site de Rmod; (B), (C) et (D) Trottoirs à vermetés (Photos: G. PMA).

2.9. Références

- Boudouresque, C.F. (1990). Livre rouge 'Gérard Vuignier' des végétaux, peuplements et paysages marins menacés de Méditerranée. United Nations Environment Programme. Mediterranean Action Plan, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, *G.I.S. Posidonie*. 250 pp.
- Franzosini, C. & Limam, A. (2004). Plan de gestion de la composante marine du Parc National d'Al-Hoceima, 109 pp.
- Ibn tattou M., Slimani T. & Thévenet M. (2014). Inventaires naturalistes de l'îlot de Cala Iris, Parc National d'Al Hoceima, Maroc. Initiative PIM. 18p.
- MedMPA. (2004). Projet Régional pour le Développement d'Aires Protégées Marines et Côtières dans la Région Méditerranéenne, 124 pp.
- METAP/Plan Bleu-SECA. (1993). Parc National d'Al Hoceïma: Plan Directeur d'Aménagement et de Gestion. Rabat.
- Miller, A. R. (1983). The Mediterranean Sea: a physical aspect. *Estuaries and enclosed seas* (éd. par: B. H. Ketchum), Elsevier, New-York, pp: 219-283.
- Millot, C. & Taupier-Letage, I. (2005). Circulation in the Mediterranean Sea. The Handbook of Environmental Chemistry, Volume 5 Part K, Alain Saliot volume Ed., Springer-Verlag: 29-66.
- PNUE-PAM-CAR/ASP, (2009). Report of Meeting of MED Pol Focal Points. UNEP (DEPI)/MED WG. 337/inf.6. Meeting of MAP Focal Points, Athens, Greece, 97 pp.
- RAC/SPA. (2017). Regional Activity Centre for Specially Protected Areas. Available from: <http://www.rac-spa.org/spami>. Accessed Oct 31, 2019.
- Tunesi, L., Mo, G., Salvati, E., Molinari, A., Rais, C., Limam, A., Benhamza, A., Benhissoune, S., Nachite, D., Zeichen, M., Agnesi, S., Di Nora, T., Piccione, M.E., Bazairi, H. & Sadki, I. (2003). Rapport global des travaux de prospection de la partie marine du Parc National d'Al Hoceima. Projet Régional pour le Développement d'Aires Protégées Marines et Côtières dans la Région Méditerranéenne (Projet MedMPA). CAR/ASP-PAM-PNUE. 111 pp.
- UICN. (2012). Atlas du Parc National d'Al-Hoceima, 104 pp.
- UICN/Med & SEO/BirdLife. (2012). Faune et flore du Parc National d'AL-Hoceima, 40 pp.

UNEP/MAP. (2009). Report of the 16th ordinary meeting of the contracting parties to the convention for the protection of the marine environment and the coastal region of the Mediterranean and its protocols. UNEP/MAP – CU, 3-5 November 2009. 23 pp.

UNEP-MAP & RAC/SPA. (2009). Diagnostic de la biodiversité marine du Rif central (Méditerranée, Maroc) et orientations de gestion. Par Ben Haj, S., Bazairi, H. & Benhissoune, S. Contrat CAR/ASP, N° 47, 48 et 49: 100 pp.



Chapitre 3

CHECKLIST OF SEAWEEDS OF AL-HOCEIMA NATIONAL PARK OF MOROCCO (MEDITERRANEAN MARINE PROTECTED AREA)



Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area)

Hanaa Moussa^{1,2*}, Mustapha Hassoun¹, Ghizlane Salhi¹, Hanaa Zbakh¹ & Hassane Riadi¹

¹ Applied Phycology-Mycolology Group, Applied Botany Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, Abdelmalek Essaâdi University, M'Hannech II, 93030 Tétouan, Morocco.

² Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain.

**Corresponding author.*

Ecology, Biodiversity and Environment Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, Abdelmalek Essaâdi University, 93000, BP. 2121, M'Hannech II, Tétouan, Morocco.

Tel: +212 5 39 97 23 44. Fax: +212 5 39 99 75 00.

E-mail address: moussa.hanaa-etu@uae.ac.ma

Modified from published article: **Moussa, H.**, Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H. & Riadi, H. (2018). Checklist of seaweeds of Al-Hoceima National Park of Morocco (Mediterranean Marine Protected Area). *Acta Botanica Malacitana*, 43: 91-109.

DOI: 10.24310 /abm.v43i0.4966.

3.1. Résumé

La mer Méditerranée est un point chaud de la biodiversité marine classé parmi les plus connus au monde. Elle est, par conséquent, considérée un milieu approprié pour étudier les écosystèmes marins. Néanmoins, la diversité macroalgale du bassin méditerranéen n'est pas encore loin d'être complètement connue, en particulier dans les aires marines protégées de la Méditerranée, y compris le Parc National d'Al-Hoceima du Maroc (PNAH).

La présente étude, contribue avec la première checklist des algues marines du PNAH, basée principalement sur nos propres collections originales et complétée par les références antérieures.

En se basant sur la taxonomie actuelle, le nombre total de taxa aux niveaux spécifiques et infra-spécifiques actuellement acceptés est de 307 taxa avec 208 Rhodophyta (39 familles), 51 Ochrophyta (13 familles) et 48 Chlorophyta (13 familles). Quarante et six de ces taxa ne figurent pas parmi nos échantillons, alors que 93 se sont avérées nouvelles pour le PNAH. En outre, l'identité taxonomique de 30 taxa a été actualisée.

Principalement, 211 taxa (144 Rhodophyta, 30 Phaeophyceae et 37 Ulvophyceae) ont été identifiés lors de toutes nos expéditions d'échantillonnage. Sur la totalité des taxa, cinq algues rouges ont été signalées pour la première fois dans toute la Méditerranée, et neuf espèces pour le Maroc : 8 Rhodophyta et une Chlorophyta. En outre, douze autres espèces (dix algues rouges, une algue brune et une algue verte) sont nouvellement enregistrées pour la côte méditerranéenne du Maroc. La confirmation de citations antérieures a été précisée pour 20 espèces, que ce soit en Afrique, au Maroc ou sur la côte méditerranéenne marocaine.

Cette checklist mise à la disposition des phycologues internationaux, pourrait servir comme une assise de base pour les futures investigations sur les algues marines de cette zone spécialement protégée d'importance méditerranéenne.

Mots clés:

Aires marines protégées de la Méditerranée, Checklist, Macroalgues, Maroc, Parc National d'Al-Hoceima.

3.2. Abstract

The Mediterranean basin is a marine biodiversity hot spot. Despite this, the macroalgal diversity of the Mediterranean Sea is still not fully known, especially in the Mediterranean Marine Protected Areas (MPAs) including, Al-Hoceima National Park of Morocco (PNAH). This paper provides the first comprehensive checklist of the seaweeds of PNAH, based chiefly on our own original collections, and complimented by literature records. Using present-day taxonomy, the total number of taxa at both specific and intraspecific levels currently accepted is 307 taxa with 208 Rhodophyta (39 families), 51 Ochrophyta (13 families) and 48 Chlorophyta (13 families). Ninety six of these species were not found in our samples, 93 were new to the PNAH, and the taxonomic identity of 30 taxa was amended.

Principally, 211 taxa (144 Rhodophyta, 30 Phaeophyceae and 37 Ulvophyceae) were identified from all of our sampling expeditions. From the totality of taxa, five red algae were signaled for the first time in the Mediterranean Sea, nine species were newly reported from Morocco: 8 Rhodophyta and one green alga. Furthermore, 12 others species (10 red, one brown and one green alga) are new records for the Mediterranean coast of Morocco. Besides this, confirmed records are mentioned for 20 species, whether in Africa, in Morocco or in the Moroccan Mediterranean coast.

This accessible checklist to the international community could serve as an infrastructure for future algal investigations of the taxa in this Specially Protected Area of Mediterranean Importance.

Key words: Al-Hoceima National Park, Checklist, Mediterranean Marine Protected Areas, Morocco, Seaweeds.

3.3. Introduction

The National Park of Al-Hoceima (PNAH) is located in the Alboran Sea in the Southern Mediterranean, Northern Morocco, 150 km east from the Gibraltar Strait, near to the city of Al-Hoceima. From the ten National Parks that have a seaboard on the Mediterranean Sea, the PNAH is considered the only National Park that covering a coastline of 40 km. Due to its particular biogeography and important biodiversity, comparable to major Mediterranean Hotspots (Tunesi *et al.*, 2003), the UN classified the PNAH in 2009 as a Specially Protected Area of Mediterranean Importance (PNUE-PAMCAR/ASP 2009).

The Mediterranean Sea is a region of high biodiversity that ranks among the best known worldwide, and it is considered as a suitable laboratory to study marine ecosystems (Coll *et al.*, 2010). The Mediterranean seaweeds have attracted many botanists (Ballesteros 1990; Ribera *et al.*, 1992; Gómez Garreta *et al.*, 2001; Furnari *et al.*, 2003; Cormaci *et al.*, 2004; Altamirano *et al.*, 2010; Ni-Ni-Win *et al.*, 2011; Tsiamis *et al.*, 2013; Katsanevakis *et al.*, 2014; Verlaque *et al.*, 2015; Cormaci *et al.*, 2012, 2014, 2017; González García *et al.*, 2017). Nevertheless, the knowledge of marine macroalgal diversity of Moroccan Mediterranean coast remains limited by a short history of investigations by some authors (e.g., Conde-Poyales 1984, 1989; Navarro & Gallardo 1989; González-García & Conde-Poyales 1991, 1994; González García 1994; Bueno del Campo & González García 1996; Flores Moya & Conde-Poyales 1998). All of these investigations were afterward included as bibliographic references in the single checklist of marine flora of Morocco (Benhissoune *et al.*, 2001, 2002a, b, 2003). Recently, the combined research efforts of the local phycologists have yielded an important number of new records of seaweeds from the Moroccan coasts and new species to the Mediterranean marine flora (Riadi *et al.*, 2011, 2013; Moussa *et al.*, 2015; Hassoun *et al.*, 2014, 2015, 2016a, b, 2018a, b; Salhi *et al.*, 2019).

Despite several algal works on the Mediterranean part of Morocco, there is no thorough listing of the seaweeds recorded in the Specially Protected Mediterranean Area (PNAH). However, it is interesting to signal that the catalogue of marine seaweed conducted by González-García & Conde-Poyales (1994) includes data from 34 sites spreading on the Moroccan Mediterranean coast, but only two sites among them belong to the Al-Hoceima National Park. Recently, González-García *et al.* (2017) have published a catalogue of macroalgae of the Peñones de Alhucemas and Vélez de la Gomera (Western Mediterranean, Alboran Sea), and they have reported a total of 107 species in Badis (Peñón de Vélez de la Gomera), the site which localize in the middle of the PNAH.

In light of the previous reasons. In this paper, we attempt to provide a comprehensive database of different macroalgae groups of the PNAH, based chiefly on our own original collections, and complimented by the previous publications. This accessible checklist to the international community would contribute as a serving tool in the Mediterranean marine environmental studies, including prospective research of seaweeds.

3.4. Materials and Methods

3.4.1. Study area and time of sampling

Field collections were performed at seven sites along the 40 km of coastline of the Al-Hoceima National Park in Morocco (**Figure 3.1**). All specimens were collected by scuba diving down to 15 m depth and by snorkeling in rocky midlittoral and sublittoral zones (0–2 m depth) throughout the years 2012-2014 and during each season.

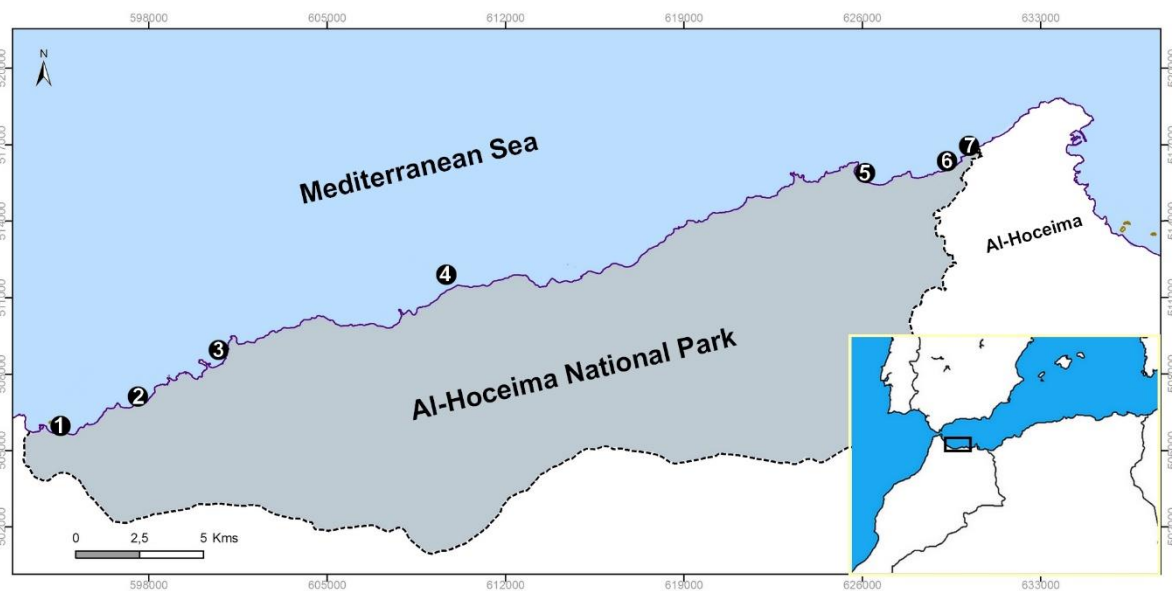


Figure 3.1. Geographical distribution of the Sampling sites along the Al-Hoceima National Park, northeast of Morocco “Mediterranean Sea”: 1- Cala Iris (35°08'53.0"N 4°21'56.4"W), 2- Torres (35°09'25.1"N, 4°20'01.6"W), 3- Badis (35°10'34.7"N 4°17'20.1"W), 4- Topo (35°11'56.5"N 4°11'21.7"W), 5- Boumehdi (35°14'16.8"N 4°01'03.8"W), 6- Tala Youssef (35°14'11.7"N 3°58'55.5"W), 7- Rmod (35°14'41.5"N, 3°57'55.7"W).

3.4.2. Identification of marine algae

Seaweeds were transported to the laboratory and stored in 5% buffered formalin-seawater solution. Species were studied under dissecting or compound microscopes and they were sectioned manually with a razor blade when necessary (**Figure 3.2**).

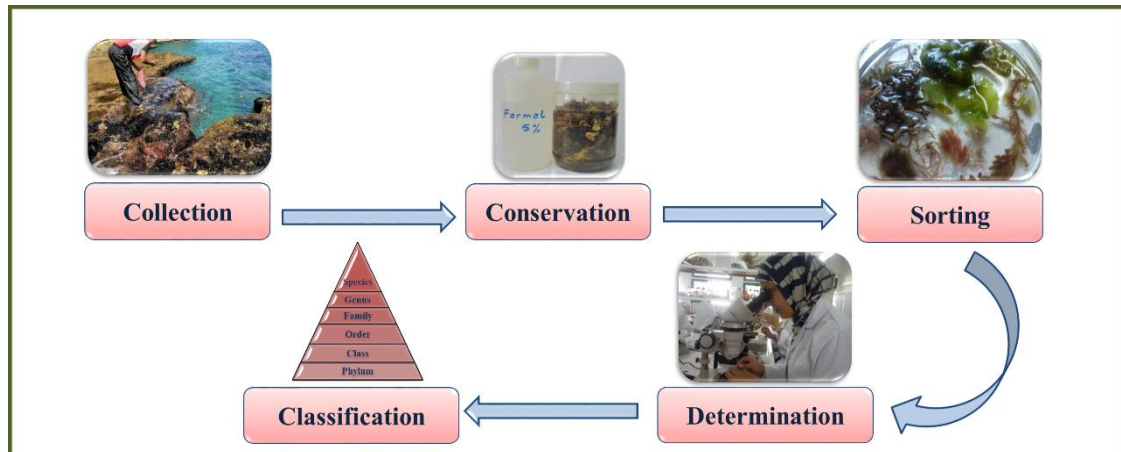


Figure 3.2. Sampling and identification of Seaweeds

Specimens of most of the species included in this checklist were deposited in the Phycological Herbarium of the Phycology and Mycology Group at the Faculty of Sciences, Department of Biology, Abdelmalek Essaâdi University, Tetouan, Morocco. For taxonomic nomenclature purposes, the on-line databases Index Nominum Algarum and AlgaeBase (Guiry & Guiry 2019) were used. The checklist of marine macroalgae of PNAH was compiled of personal collections in this study and two previous literatures data: González-García & Conde-Poyales (1994) and González-García *et al.*, (2017). The previously known species, together with the new species from PNAH and Morocco were mainly verified using AlgaeBase and after a careful review of all published records including, the checklists of seaweeds of Morocco (Benhissoune *et al.*, 2001, 2002a, b, 2003). On the other side, unpublished works such as thesis, master dissertations and technical reports have not been considered owing to the lack a scrutinized in their elaboration.

3.5. Results and Discussion

3.5.1. The Catalogue of Seaweeds

In the catalogue (**Table 3.1**), taxa of marine macroalgae are arranged alphabetically in three major groups (Chlorophyta, Ochrophyta and Rhodophyta), and following the classification systems and the nomenclature presented in AlgaeBase ([Guiry & Guiry 2019](#)). The species locations in the current study are given (1-7) and previous reference records are also provided ([González-García & Conde-Poyales 1994](#) and [González-García et al., 2017](#)).

Table 3.1. Accepted seaweed taxa hitherto reported in the Al-Hoceima National Park according to their sampling site, based on both our collections and previous records by González-García & Conde-Poyales (1994) and González-García et al. (2017).

Phylum Chlorophyta	Location in this study	Previous reference
Class Ulvophyceae		
Order Bryopsidales		
Family Bryopsidaceae		
<i>Bryopsidella neglecta</i> (Berthold) G. Furnari & M. Cormaci		P ₁
* <i>Bryopsis cupressina</i> J.V. Lamouroux	1, 2, 5, 6, 7	
<i>Bryopsis duplex</i> De Notaris	1	P ₁
<i>Bryopsis hypnoides</i> J.V. Lamouroux	1, 6,7	P ₁
<i>Bryopsis muscosa</i> J.V. Lamouroux		P ₂
<i>Bryopsis plumosa</i> (Hudson) C. Agardh	1, 4,6	P ₁ , P ₂
Family Codiaceae		
<i>Codium adhaerens</i> C. Agardh	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Codium decorticatum</i> (Woodward) M. Howe	1, 7	
<i>Codium effusum</i> (Rafinesque) Delle Chiaje		P ₁ , P ₂
<i>Codium tomentosum</i> Stackhouse	1, 4	P ₂
Family Derbesiaceae		
<i>Derbesia tenuissima</i> (Moris & De Notaris) P.L. Crouan & H.M. Crouan		P ₁ , P ₂
Family Udoteaceae		
<i>Pseudochlorodesmis furcellata</i> (Zanardini) Børgesen ⁹	1, 7	

Taxa	Location in this study	Previous reference
Order Cladophorales		
Family Boodleaceae		
<i>Cladophoropsis membranacea</i> (Hofman Bang ex C. Agardh) Børgesen ¹	1,7	
Family Cladophoraceae		
<i>Chaetomorpha aerea</i> (Dillwyn) Kützing	1, 6, 7	
<i>Chaetomorpha ligustica</i> (Kützing) Kützing	6,7	
<i>Chaetomorpha linum</i> (O.F. Müller) Kützing	2, 5, 6, 7	P ₁
<i>Cladophora albida</i> (Nees) Kützing	1, 2, 5, 7	
<i>Cladophora coelothrix</i> Kützing	1, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Cladophora dalmatica</i> Kützing	1,7	P ₁
<i>Cladophora hutchinsiae</i> (Dillwyn) Kützing	1, 6, 7	P ₁
<i>Cladophora laetevirens</i> (Dillwyn) Kützing	1,7	
<i>Cladophora lehmanniana</i> (Lindenberg) Kützing	1, 2, 4, 5, 6, 7	P ₁
<i>Cladophora prolifera</i> (Roth) Kützing	1, 7	P ₁
<i>Cladophora rupestris</i> (Linnaeus) Kützing	7	P ₁
<i>Cladophora sericea</i> (Hudson) Kützing	1	P ₁
<i>Cladophora socialis</i> Kützing ⁸	1, 2, 7	
<i>Cladophora vagabunda</i> (Linnaeus) Hoek	1	P ₁ , P ₂
<i>Lychaete battersii</i> (C.Hoek) M.J. Wynne ⁸	3, 7	
<i>Lychaete echinus</i> (Biaioletto) M.J. Wynne = <i>Cladophora echinus</i> (Biaioletto) Kützing		P ₁
<i>Rhizoclonium tortuosum</i> (Dillwyn) Kützing		P ₁ , P ₂
Family Siphonocladaceae		
<i>Siphonocladus tropicus</i> (P. Crouan & H. Crouan) J. Agardh	1	
Family Valoniaceae		
<i>Valonia macrophysa</i> Kützing	6	
<i>Valonia utricularis</i> (Roth) C. Agardh	1, 6, 7	P ₁
Order Ulotrichales		
Family Ulotrichaceae		
<i>Ulothrix flacca</i> (Dillwyn) Thuret		P ₂

Taxa	Location in this study	Previous reference
Order Ulvales		
Family Kornmanniaceae		
<i>Blidingia marginata</i> (J. Agardh) P.J.L. Dangeard ex Bliding	1	P ₁
<i>Blidingia minima</i> (Nägeli ex Kützing) Kylin		P ₂
Family Phaeophilaceae		
<i>Phaeophila dendroides</i> (P. Crouan & H. Crouan) Batters	7	P ₁
Family Ulvaceae		
<i>Ulva clathrata</i> (Roth) C. Agardh	1, 4, 6, 7	P ₂
<i>Ulva compressa</i> Linnaeus	1, 2, 3, 6, 7	P ₂
<i>Ulva flexuosa</i> Wulfen		P ₁
<i>Ulva intestinalis</i> Linnaeus = <i>Enteromorpha intestinalis</i> (Linnaeus) Nees	1, 4, 6, 7	P ₁
<i>Ulva lactuca</i> Linnaeus	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	
<i>Ulva linza</i> Linnaeus	1	P ₁ , P ₂
<i>Ulva polyclada</i> Kraft		P ₁ , P ₂
<i>Ulva prolifera</i> O.F. Müller = <i>Enteromorpha prolifera</i> (O.F. Müller) J. Agardh	1	P ₁
<i>Ulva rigida</i> C. Agardh	1, 2, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Ulva torta</i> (Mertens) Trevisan		P ₂
Family Ulvellaceae		
<i>Ulvella viridis</i> (Reinke) R. Nielsen, C.J. O'Kelly & B. Worsley = <i>Entocladia viridis</i> Reinke	1, 7	P ₁

Phylum Ochrophyta	Location in this study	Previous reference
Class Phaeophyceae		
Order Dictyotales		
Family Dictyptaceae		
<i>Dictyopteris polypodioides</i> (A.P. De Candolle) J.V. Lamouroux	6, 7	P ₁
<i>Dictyota dichotoma</i> (Hudson) J.V. Lamouroux var. <i>dichotoma</i>	1, 2, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Dictyota dichotoma</i> var. <i>intricata</i> (C. Agardh) Greville	7	P ₁
<i>Dictyota fasciola</i> (Roth) J.V. Lamouroux		P ₁
<i>Dictyota spiralis</i> Montagne		P ₁
<i>Padina pavonica</i> (Linnaeus) Thivy	1, 3, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Spatoglossum solieri</i> (Chauvin ex Montagne) Kützing		P ₁
<i>Taonia atomaria</i> (Woodward) J. Agardh		P ₁
<i>Zonaria tournefortii</i> (J.V. Lamouroux) Montagne		P ₁
Order Ectocarpales		
Family Acinetosporaceae		
<i>Feldmannia irregularis</i> (Kützing) Hamel	1	P ₁
<i>Feldmannia lebelii</i> (Areschoug ex P. Crouan & H. Crouan) Hamel	1, 2, 3	
<i>Feldmannia mitchelliae</i> (Harvey) H.-S. Kim		P ₁ , P ₂
<i>Feldmannia simplex</i> (P. Crouan & H. Crouan) Hamel ⁹	1	
<i>Hincksia hincksiae</i> (Harvey) P.C. Silva	1	
Family Ectocarpaceae		
<i>Ectocarpus crouaniorum</i> Thuret ⁵	1	
<i>Ectocarpus fasciculatus</i> Harvey		P ₁
<i>Ectocarpus siliculosus</i> (Dillwyn) Lyngbye	1, 7	
Family Scytosiphonaceae		
<i>Colpomenia peregrina</i> Sauvageau		P ₂
<i>Colpomenia sinuosa</i> (Mertens ex Roth) Derbès & Solier	1, 2, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Petalonia fascia</i> (O.F. Müller) Kuntze	6	P ₁
<i>Scytosiphon lomentaria</i> (Lyngbye) Link	6	P ₁ , P ₂
Order Fucales		
Family Fucaceae		
<i>Fucus spiralis</i> Linnaeus	1	P ₁
<i>Fucus vesiculosus</i> Linnaeus	1	

Taxa	Location in this study	Previous reference
Family Sargassaceae		
<i>Carpodesmia brachycarpa</i> (J. Agardh) Orellana & Sansón = <i>Cystoseira brachycarpa</i> J. Agardh		P ₁
<i>Carpodesmia mediterranea</i> (Sauvageau) Orellana & Sansón	6, 7	
<i>Carpodesmia tamariscifolia</i> (Hudson) Orellana & Sansón = <i>Cystoseira tamariscifolia</i> (Hudson) <i>Papenfuss</i>	1, 2, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Cystoseira compressa</i> (Esper) Gerloff & Nizamuddin	1, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Cystoseira humilis</i> Schousboe ex Kützing		P ₁
<i>Cystoseira mauritanica</i> Sauvageau		P ₁
<i>Cystoseira montagnei</i> J. Agardh = <i>Cystoseira spinosa</i> Sauvageau		P ₂
<i>Cystoseira montagnei</i> J. Agardh		P ₂
<i>Cystoseira usneoides</i> (Linnaeus) M. Roberts		P ₁
<i>Sargassum hornschuchii</i> C. Agardh		P ₁
<i>Sargassum vulgare</i> C. Agardh nom. illeg.	1, 3, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Treptacantha elegans</i> (Sauvageau) Orellana & Sansón		P ₁
<i>Treptacantha nodicaulis</i> (Withering) Orellana & Sansón		P ₂
<i>Treptacantha sauvageauana</i> (Hamel) Orellana & Sansón		P ₁
Order Ralfsiales		
Family Hapalospongiaceae		
<i>Hapalospongidion macrocarpum</i> (Feldmann) León-Álvarez & González-González		P ₁ , P ₂
Family Ralfsiaceae		
<i>Ralfsia verrucosa</i> (Areschoug) Areschoug	1	P ₂
Order Sphacelariales		
Family Cladostephaceae		
<i>Cladostephus spongiosum</i> (Hudson) C. Agardh	1, 3, 4, 5, 7	

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Cladostephus spongiosum</i> f. <i>verticillatum</i> (Lightf.) Prud'homme van Reine		P ₁
Family Lithodermataceae		
<i>Pseudolithoderma adriaticum</i> (Hauck) Verlaque ¹	1,7	
Family Sphacelariaceae		
<i>Sphacelaria cirrosa</i> (Roth) C. Agardh	1, 5, 6, 7	P ₁
<i>Sphacelaria fusca</i> (Hudson) S. F. Gray	3, 7	P ₁
<i>Sphacelaria plumula</i> Zanardini	1, 3, 7	P ₁ , P ₂
<i>Sphacelaria rigidula</i> Kützing	1, 4, 7	P ₁ , P ₂
<i>Sphacelaria tribuloides</i> Meneghini	1, 5, 7	P ₂
Family Stypocaulaceae		
<i>Halopteris filicina</i> (Grateloup) Kützing	1, 7	P ₁ , P ₂
<i>Halopteris scoparia</i> (Linnaeus) Sauvageau	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
Order Tilopteridales		
Family Phyllariaceae		
<i>Phyllariopsis brevipes</i> (C. Agardh) E.C. Henry & G.R. South		P ₁
<i>Saccorhiza polyschides</i> (Lightfoot) Batters	4	

Phylum Rhodophyta	Location in this study	Previous reference
Class Bangiophyceae		
Order Bangiales		
Family Bangiaceae		
<i>Bangia atropurpurea</i> (Mertens ex Roth) C. Agardh	1, 7	
<i>Bangia fuscopurpurea</i> (Dillwyn) Lyngbye		P ₂
<i>Porphyra umbilicalis</i> Kützing	7	P ₂
<i>Pyropia leucosticta</i> (Thuret) Neefus & J. Brodie	1, 2, 6, 7	
Class Compsopogonophyceae		
Order Erythropeltales		
Family Erythrotrichiaceae		
* <i>Erythrotrichia bertholdii</i> Batters	1, 7	

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Erythrotrichia carnea</i> (Dillwyn) J. Agardh	1, 2, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Erythrotrichia investiens</i> (Zanardini) Bornet ⁶	1, 7	
<i>Erythrotrichia reflexa</i> (P.L. Crouan et H.M. Crouan) Thuret ex De Toni		P ₂
<i>Porphyrostromium ciliare</i> (Carmichael) M.J. Wynne ^{1,7}	1	
Class Florideophyceae		
Order Acrochaetiales		
Family Acrochaetiaceae		
<i>Acrochaetium microscopicum</i> (Nägeli ex Kützing) Nägeli		P ₁ , P ₂
<i>Acrochaetium parvulum</i> (Kylin) Hoyt		P ₁ , P ₂
<i>Acrochaetium trifilum</i> (Buffham) Batters		P ₁
<i>Grania efflorescens</i> (J. Agardh) Kylin = <i>Acrochaetium thuretii</i> (Bornet) Collins & Hervey		P ₁
Order Bonnemaisoniales		
Family Bonnemaisoniaceae		
<i>Asparagopsis armata</i> Harvey	1, 2, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Asparagopsis taxiformis</i> (Delile) Trevisan ⁸	1, 3, 4, 5, 6, 7	
<i>Bonnemaisonia hamifera</i> Hariot	1, 7	
Order Ceramiales		
Family Callithamniaceae		
<i>Aglaothamnion cordatum</i> Feldmann-Mazoyer	1, 4	
<i>Aglaothamnion tenuissimum</i> (Bonnemaison) Feldmann-Mazoyer = <i>Aglaothamnion byssoides</i> (Arnott ex Harvey) C.F. Boudouresque & M. M.Perret-Boudouresque	1, 6	P ₁
<i>Callithamnion corymbosum</i> (Smith) Lyngbye	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Callithamnion granulatum</i> (Ducluzeau) C. Agardh	1, 6, 7	P ₁
<i>Callithamnion tetragonum</i> (Withering) S.F. Gray	1, 3, 6, 7	P ₁
<i>Callithamnion tetricum</i> (Dillwyn) S.F.Gray ⁹	1, 2, 4, 6, 7	

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Gaillona gallica</i> (Nägeli) Athanasiadis = <i>Aglaothamnion gallicum</i> (Nägeli) L'Hardy-Halos ex F. Ardré		P ₂
<i>Crouania attenuata</i> (C. Agardh) J. Agardh	1, 5, 6, 7	P ₁
<i>Gaillona hookeri</i> (Dillwyn) Athanasiadis = <i>Aglaothamnion hookeri</i> (Dillwyn) C.M. Maggs et M.H. Hommersand		P ₁ , P ₂
<i>Gaillona scopulorum</i> (C. Agardh) Athanasiadis ⁹	2	
<i>Seirospora giraudyi</i> (Kützing) De Toni		P ₁
Family Ceramiaceae		
<i>Antithamnion amphigeneum</i> A. Millar = <i>Antithamnion algeriense</i> M. Verlaque & Seridi		P ₁
<i>Antithamnion cruciatum</i> (C. Agardh) Nägeli	7	P ₁ , P ₂
* <i>Antithamnion decipiens</i> (J. Agardh) Athanasiadis	1	
* <i>Antithamnionella boergesenii</i> (Cormaci & G. Furnari) Athanasiadis	7	
<i>Antithamnionella elegans</i> (Berthold) J.H. Price & D. M. John		P ₁
<i>Antithamnionella spirographidis</i> (Schiffner) E.M. Wollaston	1	P ₂
<i>Centroceras gasparrinii</i> (Meneghini) Kützing ⁴	1, 2, 3, 5, 6, 7	
<i>Ceramium ciliatum</i> (J. Ellis) Ducluzeau var. <i>ciliatum</i>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Ceramium ciliatum</i> var. <i>robustum</i> (J. Agardh) Mazoyer		P ₁
<i>Ceramium circinatum</i> (Kützing) J. Agardh		P ₁
<i>Ceramium codii</i> (H. Richards) Mazoyer	1, 4, 7	
<i>Ceramium diaphanum</i> (Lightfoot) Roth	1, 2, 3, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Ceramium echionotum</i> J. Agardh	1, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Ceramium giacconeii</i> Cormaci & G. Furnari ²	1, 4	
<i>Ceramium secundatum</i> Lyngbye	5, 6, 7	P ₂

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Ceramium siliquosum</i> var. <i>lophophorum</i> (Feldman-Mazoyer) Serio = <i>Ceramium diaphanum</i> var. <i>lophophorum</i> Feldmann-Mazoyer		P ₁
<i>Ceramium tenerrimum</i> (G. Martens) Okamura		P ₁ , P ₂
<i>Gayliella flaccida</i> (Harvey ex Kützing) T.O. Cho & L.J. McIvor	4	P ₁ , P ₂
<i>Gayliella taylorii</i> (E.Y. Dawson) T.O. Cho & S. M. Boo ⁸	1, 2, 3, 5, 7	
<i>Ceramium virgatum</i> Roth var. <i>virgatum</i> ³	1, 2, 5, 6, 7	
<i>Ceramium virgatum</i> var. <i>implexocontortum</i> (Solier) G. Furnari		P ₁
<i>Pterothamnion crispum</i> (Ducluzeau) Nägeli	1, 4, 7	P ₁
<i>Pterothamnion plumula</i> (J. Ellis) Nägeli	4, 7	P ₁
Family Dasyaceae		
<i>Dasya corymbifera</i> J. Agardh ¹	1, 2, 4, 6	
<i>Dasya hutchinsiae</i> Harvey	1, 4, 7	P ₁ , P ₂
<i>Dasya ocellata</i> (Grateloup) Harvey	7	
<i>Dasya rigidula</i> (Kützing) Ardissoni	1, 2, 5, 7	P ₁
Family Delesseriaceae		
<i>Acrosorium ciliolatum</i> (Harvey) Kylin = <i>Acrosorium venulosum</i> (Zanardini) Kylin	1, 3, 4, 6, 7	P ₁
<i>Apoglossum ruscifolium</i> (Turner) J. Agardh	4	P ₁ , P ₂
<i>Cryptopleura ramosa</i> (Hudson) L. Newton	1, 7	P ₁
<i>Hypoglossum hypoglossoides</i> (Stackhouse) Collins & Hervey	1, 7	P ₁ , P ₂
<i>Myriogramme minuta</i> Kylin		P ₁ , P ₂
<i>Nitophyllum punctatum</i> (Stackhouse) Greville ⁹	1, 2	
<i>Radicilingua thysanorhizans</i> (Holmes) Papenfuss	1	
<i>Taenioma nanum</i> (Kützing) Papenfuss	1, 2, 5, 7	
Family Rhodomelaceae		
<i>Alsidium corallinum</i> C. Agardh		P ₂
<i>Aphanocladia stichidiosa</i> (Funk) Ardré	1, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Carradoriella denudata</i> (Dillwyn) A. M. Savoie & G.W. Saunders = <i>Polysiphonia denudata</i> (Dillwyn) Greville ex Harvey	1, 4, 7	P ₁
<i>Carradoriella elongata</i> (Hudson) A.M. Savoie & G.W. Saunders = <i>Polysiphonia elongata</i> (Hudson) Sprengel		P ₁
<i>Chondria capillaris</i> (Hudson) M.J. Wynne	1, 2, 5, 6, 7	P ₁
<i>Chondria coerulescens</i> (J. Agardh) Sauvageau	1, 2, 6, 7	P ₁
<i>Chondria dasyphylla</i> (Woodward) C. Agardh	1, 2, 3, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Chondria mairei</i> G. Feldmann		P ₁
<i>Chondrophycus undulates</i> (Yamada) Garbary & Harper		P ₁
<i>Halopithys incurva</i> (Hudson) Batters	6, 7	P ₁
<i>Herposiphonia secunda</i> (C. Agardh) Ambronn	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Herposiphonia secunda</i> f. <i>tenella</i> (C. Agardh) M.J. Wynne		P ₁
<i>Herposiphonia tenella</i> (C. Agardh) Ambronn	1, 2, 4, 5, 6	
<i>Heterosiphonia crispella</i> (C. Agardh) M.J. Wynne	1, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Laurencia obtusa</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Leptosiphonia fibrillosa</i> (Agardh) A.M.Savoie & G.W.Saunders	6	
<i>Leptosiphonia brodiei</i> (Dillwyn) A.M.Savoie & G.W.Saunders	6	
* <i>Melanothamnus harveyi</i> (Bailey) Díaz-Tapia & Maggs	7	
* <i>Melanothamnus sphaerocarpus</i> (Børgesen) Díaz-Tapia & Maggs	1, 4, 7	
<i>Osmundea pinnatifida</i> (Hudson) Stackhouse	1, 2, 3, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Palisada perforata</i> (Bory) K.W. Nam = <i>Laurencia papillosa</i> (C.Agardh) Greville		P ₁
<i>Polysiphonia atlantica</i> Kapraun & J.N. Norris	7	
<i>Polysiphonia dichotoma</i> Kützting		P ₁

Taxa	Location in this study	Previous reference
* <i>Polysiphonia flocculosa</i> (C. Agardh) Endlicher	1	
** <i>Polysiphonia havanensis</i> Montagne	6, 7	
<i>Polysiphonia opaca</i> (C. Agardh) Moris & De Notaris	1, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Polysiphonia sertularioides</i> (Grateloup) J. Agardh	3, 6	P ₁ , P ₂
<i>Polysiphonia stricta</i> (Mertens ex Dillwyn) Greville ⁵	6, 7	
<i>Pterosiphonia complanata</i> (Clemente) Falkenberg	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Rytiphlaea tinctoria</i> (Clemente) C. Agardh	7	
<i>Symphyocliadiella parasitica</i> (Hudson) D. Bustamante, B. Y. Won, S. C. Lindstrom & T. O. Cho = <i>Symphyocladia parasitica</i> (Hudson) Savoie & G. W. Saunders		P ₁
<i>Vertebrata fruticulosa</i> (Wulfen) Kuntze = <i>Boergeseniella fruticulosa</i> (Wulfen) Kylin	1, 2, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Vertebrata fucoides</i> (Hudson) Kuntze = <i>Polysiphonia fucoides</i> (Hudson) Greville		P ₁
<i>Vertebrata reptabunda</i> (Suhr) Díaz-Tapia & Maggs = <i>Lophosiphonia reptabunda</i> (Suhr) Kylin		P ₁
<i>Vertebrata thuyoides</i> (Harvey) Kuntze	1, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Vertebrata tripinnata</i> (Harvey) Kuntze	1, 7	
<i>Xiphosiphonia pennata</i> (C. Agardh) Savoie & G. W. Saunders	7	P ₁ , P ₂
Family Sarcomeniaceae		
<i>Cottoniella filamentosa</i> (M. Howe) Børgesen		P ₂
Family Spyridiaceae		
<i>Spyridia filamentosa</i> (Wulfen) Harvey	1, 7	P ₁
Family Wrangeliaceae		
<i>Compsothamnion thuioides</i> (Smith) Nägeli		P ₂
** <i>Diplothamnion jolyi</i> C. Hoek	1, 7	
<i>Griffithsia opuntiioides</i> J. Agardh	1, 4, 6, 7	P ₁

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Halurus flosculosus</i> (J. Ellis) Maggs & Hommersand		P ₁
<i>Lejolisia mediterranea</i> Bornet		P ₁
<i>Monosporus pedicellatus</i> (Smith) Solier	1, 6	
<i>Pleonosporium borrii</i> (Smith) Nägeli	1, 2, 6, 7	P ₁
<i>Spermothamnion flabellatum</i> Bornet		P ₁
<i>Spermothamnion repens</i> (Dillwyn) Magnus ⁹	7	
<i>Spongoclonium caribaeum</i> (Børgesen) M.J. Wynne ⁸	4	
<i>Tiffaniella capitata</i> (Bornet) Doty & Meñez ¹	5	
** <i>Tiffaniella gorgonea</i> (Montagne) Doty & Meñez	5, 7	
Order Colaconematales		
Family Colaconemataceae		
<i>Colaconema caespitosum</i> (J. Agardh) Jackelman, Stegenga & J.J. Bolton	1	
<i>Colaconema daviesii</i> (Dillwyn) Stegenga	1, 4	P ₁ , P ₂
<i>Colaconema savianum</i> (Meneghini) R. Nielsen = <i>Acrochaetium savianum</i> (Meneghini) Nägeli		P ₁
Order Corallinales		
Family Corallinaceae		
<i>Amphiroa beauvoisii</i> J.V. Lamouroux	4, 7	P ₁
<i>Amphiroa cryptarthrodia</i> Zanardini		P ₁
<i>Amphiroa fragilissima</i> (Linnaeus) J.V. Lamouroux	1	
<i>Amphiroa rigida</i> J.V. Lamouroux	7	P ₁
<i>Corallina officinalis</i> Linnaeus	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁
<i>Ellisolandia elongata</i> (J. Ellis & Solander) K.R. Hind & G.W. Saunders	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Hydrolithon farinosum</i> (J.V. Lamouroux) Penrose & Y.M. Chamberlain = <i>Fosliella farinosa</i> (J.V. Lamouroux) M. Howe		P ₁
** <i>Jania capillacea</i> Harvey	6	
<i>Jania longifurca</i> Zanardini	1, 2, 4, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Jania rubens</i> (Linnaeus) J.V. Lamouroux	1, 2, 3, 4, 5, 7	P ₁ , P ₂
<i>Jania rubens</i> var. <i>corniculata</i> (Linnaeus) Yendo = <i>Jania corniculata</i> (Linnaeus) J.V.Lamouroux		P ₁
<i>Jania squamata</i> (Linnaeus) J.H. Kim, Guiry & H.-G. Choi ⁹	1, 3, 5, 7	
<i>Jania virgata</i> (Zanardini) Montagne = <i>Corallina granifera</i> J.Ellis & Solander		P ₁
<i>Lithophyllum byssoides</i> (Lamarck) Foslie		P ₂
<i>Lithophyllum corallinae</i> (P. Crouan & H. Crouan) Heydrich ¹	6	
<i>Lithophyllum Cystoseirae</i> (Hauck) Heydrich = <i>Titanoderma Cystoseirae</i> (Hauck) Woelkerling, Y.M.Chamberlain & P.C.Silva		P ₁
<i>Lithophyllum dentatum</i> (Kützing) Foslie = <i>Spongites dentatus</i> Kützing	7	P ₁
<i>Lithophyllum incrustans</i> Philippi	1, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Neogoniolithon brassica-florida</i> (Harvey) Setchell & L.R. Mason		P ₁ , P ₂
<i>Pneophyllum confervicola</i> (Kützing) Y.M. Chamberlain ⁸	1, 7	
<i>Pneophyllum fragile</i> Kützing = <i>Pneophyllum lejolisii</i> (Rosanoff) Y.M.Chamberlain		P ₁
<i>Tenarea tortuosa</i> (Esper) Me. Lemoine	1, 6, 7	
<i>Titanoderma pustulatum</i> (J.V. Lamouroux) Nägeli	1, 2, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
Family Lithothamniaceae		
<i>Phymatolithon lenormandii</i> (Areschoug) W.H.Adey		P ₂
Order Gelidiales		
Family Gelidiaceae		
<i>Gelidiella lubrica</i> (Kützing) Feldmann & Hamel	1, 7	
<i>Gelidium attenuatum</i> (Turner) Thuret	3, 6, 7	
<i>Gelidium pectinatum</i> (Montagne) Montagne ¹	1	

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Gelidium corneum</i> (Hudson) J.V. Lamouroux	7	P ₁ , P ₂
<i>Gelidium crinale</i> (Hare ex Turner) Gaillon	2, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Gelidium microdon</i> Kützing	1	
<i>Gelidium minusculum</i> (Weber-van Bosse) R.E. Norris	1, 7	
<i>Gelidium pulchellum</i> (Turner) Kützing	1, 6, 7	
<i>Gelidium pusillum</i> (Stackhouse) Le Jolis var. <i>pusillum</i>	1, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Gelidium pusillum</i> var. <i>pulvinatum</i> (C. Agardh) Feldmann	1, 2, 7	
<i>Gelidium spathulatum</i> (Kützing) Bornet	1	P ₁ , P ₂
<i>Gelidium spinosum</i> (S.G. Gmelin) P.C. Silva var. <i>spinosum</i>	1, 2, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Gelidium spinosum</i> var. <i>hystrix</i> (J. Agardh) G. Furnari = <i>Gelidium latifolium</i> var. <i>hystrix</i> (J. Agardh) Hauck		P ₁
Family Pterocladaceae		
<i>Pterocladia capillacea</i> (S.G. Gmelin) Santelices & Hommersand	1, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Pterocladia melanoidea</i> (Schousboe ex Bornet) Santelices & Hommersand	7	
Order Gigartinales		
Family Caulacanthaceae		
<i>Caulacanthus ustulatus</i> (Mertens ex Turner) Kützing	1, 7	P ₂
Family Cystocloniaceae		
<i>Hypnea musciformis</i> (Wulfen) J.V. Lamouroux	1, 3, 5, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Hypnea spinella</i> (C. Agardh) Kützing ¹	5, 7	
* <i>Hypnea valentiae</i> (Turner) Montagne	7	
<i>Rhodophyllis divaricata</i> (Stackhouse) Papenfuss ¹	1, 6, 7	
Family Gigartinaceae		
<i>Chondracanthus acicularis</i> (Roth) Fredericq	1, 2, 3, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Chondracanthus teedei</i> (Mertens ex Roth) Kützing	7	

Taxa	Location in this study	Previous reference
<i>Gigartina pistillata</i> (S.G. Gmelin) Stackhouse	6, 7	P ₁ , P ₂
Family Phylloporaceae		
<i>Gymnogongrus crenulatus</i> (Turner) J. Agardh		P ₁ , P ₂
<i>Gymnogongrus griffithsiae</i> (Turner) Martius	6, 7	
<i>Gymnogongrus patens</i> (Goodenough & Woodward) J. Agardh	1, 3, 6, 7	
<i>Phyllophora crispa</i> (Hudson) P.S. Dixon		P ₁
<i>Phyllophora sicula</i> (Kützing) Guiry & L.M. Irvine		P ₁
<i>Schottera nicaeensis</i> (J.V. Lamouroux ex Duby) Guiry & Hollenberg		P ₁ , P ₂
<i>Stenogramma interruptum</i> (C. Agardh) Montagne ⁹	6	P ₂
Family Rissoellaceae		
<i>Rissoella verruculosa</i> (Bertoloni) J. Agardh	1, 2	P ₁
Family Schmitziellaceae		
<i>Schmitziella endophloea</i> Bornet & Batters		P ₁ , P ₂
Family Sphaerococcaceae		
<i>Sphaerococcus coronopifolius</i> Stackhouse	1, 4, 7	P ₁ , P ₂
Order Gracilariales		
Family Gracilariaceae		
<i>Gracilaria armata</i> (C. Agardh) Greville		P ₁
<i>Gracilaria bursa-pastoris</i> (S.G. Gmelin) P.C. Silva		P ₁ , P ₂
<i>Gracilaria conferta</i> (Schousboe ex Montagne) Montagne ¹	7	
<i>Gracilaria dura</i> (C. Agardh) J. Agardh ¹	7	
<i>Gracilaria multipartita</i> (Clemente) Harvey	6	
<i>Gracilariopsis longissima</i> (S.G. Gmelin) M. Steentoft, L.M. Irvine & W.F. Farnham	3, 7	
Order Halymeniales		
Family Halymeniaceae		
<i>Grateloupia filicina</i> (J.V. Lamouroux) C. Agardh	6, 7	P ₁

Taxa	Location in this study	Previous reference
Order Hapalidiales		
Family Hapalidiaceae		
<i>Choreonema thuretii</i> (Bornet) F. Schmitz		P ₁
<i>Melobesia membranacea</i> (Esper) J.V. Lamouroux	2	P ₁ , P ₂
Family Mesophyllaceae		
<i>Mesophyllum expansum</i> (Philippi) Cabioch & M.L. Mendoza = <i>Lithophyllum expansum</i> Philippi	1	P ₁
<i>Mesophyllum lichenoides</i> (J.Ellis) Me. Lemoine	1, 6, 7	P ₁ , P ₂
Order Hildenbrandiales		
Family Hildenbrandiaceae		
<i>Hildenbrandia rubra</i> (Sommerfelt) Meneguini		P ₂
Order Nemaliales		
Family Liagoraceae		
<i>Liagora distenta</i> (Mertens ex Roth) J.V. Lamouroux		P ₁
<i>Liagora viscida</i> (Forsskål) C. Agardh		P ₁
Family Nemaliaceae		
<i>Nemalion elminthoides</i> (Volley) Batters	6, 7	P ₁ , P ₂
Family Scinaiceae		
<i>Scinaia furcellata</i> (Turner) J. Agardh		P ₁
Order Nemastomatales		
Family Schizymeniaceae		
<i>Schizymenia dubyi</i> (Chauvin ex Duby) J. Agardh	1	
Order Peyssonneliales		
Family Peyssonneliaceae		
<i>Peyssonnelia bornetii</i> Boudouresque & Denizot		P ₁
<i>Peyssonnelia coriacea</i> Feldmann		P ₂
<i>Peyssonnelia dubyi</i> P. Crouan & H. Crouan		P ₁
<i>Peyssonnelia squamaria</i> (S.G. Gmelin) Decaisne		P ₁ , P ₂

Taxa	Location in this study	Previous reference
Order Plocamiales		
Family Plocamiaceae		
<i>Plocamium cartilagineum</i> (Linnaeus) P.S. Dixon		P ₁ , P ₂
<i>Plocamium raphelisianum</i> P.J.L. Dangeard	1, 3, 4, 6, 7	
Order Rhodymeniales		
Family Champiaceae		
** <i>Champia compressa</i> Harvey	1, 2, 4, 7	
<i>Champia parvula</i> (C. Agardh) Harvey	1, 2, 5, 7	P ₁
<i>Gastroclonium clavatum</i> (Roth) Ardissonne	1, 7	P ₁ , P ₂
<i>Gastroclonium reflexum</i> (Chauvin) Kützing ¹	1, 4, 7	
Family Lomentariaceae		
<i>Lomentaria articulata</i> (Hudson) Lyngbye ⁹	1, 6, 7	
* <i>Lomentaria articulata</i> var. <i>linearis</i> Zanardini	7	
Family Rhodymeniaceae		
<i>Botryocladia botryoides</i> (Wulfen) Feldmann	6	P ₁
<i>Rhodymenia caespitosa</i> P.J.L. Dangeard	7	
<i>Rhodymenia pseudopalmata</i> (J.V. Lamouroux) P.C. Silva ⁹	6, 7	
Classe Stylonematophyceae		
Order Stylonematales		
Family Stylonemataceae		
<i>Chroodactylon ornatum</i> (C. Agardh) Basson		P ₁
<i>Stylonema alsidii</i> (Zanardini) K.M. Drew	1, 4, 6, 7	P ₁ , P ₂
<i>Stylonema cornu-cervi</i> Reinsch		P ₁

The sites are as follows: Cala Iris (1); Torres (2); Badis (3); Topo (4); Boumehti (5); Tala Youssef (6) and Rmod (7). Confirmed presence in previous study (P₁: González-García & Conde-Poyales (1994), P₂: González-García *et al.* (2017)). Superscript number refer to the Notes. Authors of taxa are given in full, and synonyms of amended taxa are also given. New records for Morocco are marked with an asterisk [*] before the name of a taxon, and two asterisks [**] are given for the new records for the Mediterranean Sea.

Notes:

¹The twelve species identified in this study (*Cladophoropsis membranacea*, *Dasya corymbifera*, *Gastroclonium reflexum*, *Gelidium bipectinatum*, *Gracilaria conferta*, *Gracilaria dura*, *Hypnea spinella*, *Lithophyllum corallinae*, *Pseudolithoderma adriaticum*, *Porphyrostromium ciliare*, *Rhodophyllis divaricata*, *Tiffaniella capitata*) were reported newly for the Mediterranean coast of Morocco. However, all of these species have been signaled in the Atlantic coast of Morocco by Benhissoune *et al.*, (2001, 2002a, b, 2003).

²*Ceramium giacconei* was described by Cormaci and Furnari (1991) to accommodate the entity previously known in the Mediterranean as *Ceramium cingulatum* Weber-van Bosse. Therefore, the single record of the later species by González-García and Conde-Poyales (1994), should be treated as *C. giacconei*.

³Reported as *Ceramium nodulosum* by González-García and Conde-Poyales (1994). *Ceramium virgatum* was cited by C. Agardh (1811) as a synonym of *C. rubrum* and later noted as possibly conspecific with *C. nodulosum* (Maggs & Hommersand 1993). But Silva *et al.*, (1996) point out that *C. nodulosum* Ducluzeau, the name proposed by Maggs and Hommersand (1993) to accommodate the species commonly reported as *C. rubrum* (Hudson) C. Agardh, cannot be used. Later, Maggs *et al.*, (2002) suggested that the name *C. virgatum* Roth should be used for *C. nodulosum* (Lightfoot) Ducluzeau.

⁴Barros-Barreto *et al.*, (2006) reported that *Centroceras clavulatum* (C. Agardh) Montagne may consist of a species complex. Recently, Won *et al.*, (2009) indicated that *C. clavulatum* has a biogeographic distribution limited to the Pacific Ocean. More recently, Hassoun *et al.*, (2018) pointed out that all specimens of *Centroceras* examined from Morocco are not *C. clavulatum* but *C. gasparrini*. As a result, *C. clavulatum* was excluded from Moroccan flora and replaced with *C. gasparrinii*.

⁵*Polysiphonia stricta* and *Ectocarpus crouanii* were previously reported only in one reference in an unpublished thesis (Kazzaz 1989). Thus, the presence of the two species in Morocco was confirmed in this study. Furthermore, this is the first record of *Ectocarpus crouanii* in Africa.

⁶Confirmation of presence in Morocco for *Erythrotrichia investiens*, which was reported just in the study of González-García and Conde-Poyales (1991). This is one of the rare records of this species in Africa after the first report was made by John *et al.*, (1979).

⁷This is the first record of *Porphyrostromium ciliare* in Morocco and Africa after the only record of this species was made by Dangeard (1949) from the Atlantic.

⁸The two green algae (*Cladophora socialis*, *Lychaete battersii*) and four red seaweeds (*Asparagopsis taxiformis*, *Gayliella taylorii*, *Pneophyllum confervicola*, *Spongoclonium caribaeum*) present in our checklist were reported from Morocco for the second time after the investigation conducted by Riadi *et al.*, (2011).

⁹Confirmation of presence in the Mediterranean coast of Morocco for ten species (*Callithamnion tetricum*, *Feldmannia simplex*, *Gaillona scopulorum*, *Jania squamata*, *Lomentaria articulata*, *Nitophyllum punctatum*, *Pseudochlorodesmis furcellata*, *Rhodymenia pseudopalmata*, *Spermothamnion repens*, *Stenogramma interruptum*) previously signaled in an unpublished national thesis (Kazzaz 1989).



3.5.2. Floristic analysis

The checklist presented in this work includes 307 taxa at specific and intraspecific level, including 208 Rhodophyta, 51 Ochrophyta, and 48 Chlorophyta (**Table 3.2**). Principally, 211 taxa (144 Rhodophyta, 30 Ochrophyta and 37 Ulvophyceae) were identified from all of our sampling expeditions. Among our collections, 5 species are new for the Mediterranean Sea (*Champia compressa*, *Diplothamnion jolyi*, *Jania capillacea*, *Polysiphonia havanensis*, *Tiffaniella gorgonea*), 9 are new for Morocco (*Antithamnion decipiens*, *Antithamnionella boergesenii*, *Bryopsis cupressina*, *Erythrotrichia bertholdii*, *Hypnea valentiae*, *Lomentaria articulata* var. *linearis*, *Melanothamnus harveyi*, *Melanothamnus sphaerocarpus*, *Polysiphonia flocculosa*), and 12 others species are new records for the Mediterranean coast of Morocco.

Table 3.2. Number of seaweeds taxa according to different taxonomic groups (Class, order, family, genus and species).

	Class	Order	Family	Genus	Species
Chlorophyta	1	4	13	17	48
Ochrophyta	1	6	13	25	51
Rhodophyta	4	19	39	107	208
Total	6	29	65	149	307

- **Rhodophyta**

In this study, the results have indicated that Rhodophyta represent the dominant group with four classes (Bangiophyceae, Compsopogonophyceae, Florideophyceae and Stylonematophyceae) and 19 orders (see **table 3.3**). They encompass 208 taxa within 39 families. The family Rhodomelaceae contained the most species (37) grouped in 19 genera, followed by the Ceramiaceae with 23 species. Moreover, *Ceramium* (12) and *Gelidium* (12) were the most diverse genera among the red algae.

Table 3.3. Number of classes, orders, families, genera and species of Rhodophyta reported from Al-Hoceima National Park.

Rhodophyta				
Classes	Orders	Families	Genera	Species
Bangiophyceae	Bangiales	Bangiaceae	3	4
Compsopogonophyceae	Erythropeltales	Erythrotrichiaceae	2	5
Florideophyceae	Acrochaetiales	Acrochaetiaceae	2	4
	Bonnemaisoniales	Bonnemaisoniaceae	2	3
	Ceramiales	Callithamniaceae	5	11
		Ceramiaceae	6	23
		Dasyaceae	1	4
		Delesseriaceae	8	8
		Rhodomelaceae	19	37
		Sarcomeniaceae	1	1
		Spyridiaceae	1	1
		Wrangeliaceae	10	12
	Colaonematales	Colaonemataceae	1	3
	Corallinales	Corallinaceae	10	23
		Lithothamniaceae	1	1
	Gelidiales	Gelidiaceae	2	13
		Pterocladaceae	1	2
	Gigartinales	Caulacanthaceae	1	1
		Cystocloniaceae	2	4
		Gigartinaceae	2	3
		Phyllophoraceae	4	7
		Rissoellaceae	1	1
		Schmitziellaceae	1	1
		Sphaerococcaceae	1	1
	Gracilariales	Gracilariaceae	2	6
	Halymeniales	Halymeniaceae	1	1
	Hapalidiales	Hapalidiaceae	2	2
		Mesophyllaceae	1	2
	Hildenbrandiales	Hildenbrandiaceae	1	1
	Nemaliales	Liagoraceae	1	2
		Nemaliaceae	1	1
		Scinaiaceae	1	1
Nemastomatales	Schizymeniaceae	1	1	
Peyssonneliales	Peyssonneliaceae	1	4	
Plocamiales	Plocamiaceae	1	2	
Rhodymeniales	Champiaceae	2	4	
	Lomentariaceae	1	2	
	Rhodymeniaceae	2	3	
Stylonematophyceae	Stylonematales	Stylonemataceae	2	3
4	19	39	107	208

• Ochrophyta (Class Phaeophyceae)

A total of 51 taxa belonging to the Ochrophyta (Phaeophyceae) were signaled in this catalogue, under 13 different families and 25 genera. Sargassaceae was the most diverse family among brown algae with 14 taxa, followed by the Dictyotaceae with 9 species. Additionally, the genus *Cystoseira* has the most taxa (6 species) among the brown algae of PNAH (**Table 3.4**).

Table 3.4. Number of class, orders, families, genera and species of Ochrophyta (Class Phaeophyceae) reported from Al-Hoceima National Park.

Ochrophyta			
Orders	Families	Genera	Species
Dictyotales	Dictyotaceae	6	9
Ectocarpales	Ectocarpaceae	1	3
	Acinetosporaceae	2	5
	Scytosiphonaceae	3	4
Fucales	Sargassaceae	4	14
	Fucaceae	1	2
Ralfsiales	Hapalospongidiaceae	1	1
	Ralfsiaceae	1	1
Sphacelariales	Cladostephaceae	1	2
	Lithodermataceae	1	1
	Sphacelariaceae	1	5
	Stypocaulaceae	1	2
Tilopteridales	Phyllariaceae	2	2
6	13	25	51

• Chlorophyta (Class Ulvophyceae)

Regarding the Ulvophyceae, 48 taxa from 13 families have been reported from the coastline of the National Park of Al-Hoceima (**Table 3.5**). The most species-rich family among the Class Ulvophyceae, was the Cladophoraceae with 17 taxa, followed by the Ulvaceae with 10 species. Furthermore, *Cladophora* with 11 and *Ulva* with 10 were the most species-rich genera in green algae of the Park.

Table 3.5. Number of class, orders, families, genera and species of Chlorophyta (Class Ulvophyceae) reported from Al-Hoceima National Park.

Chlorophyta			
Orders	Families	Genera	Species
Bryopsidales	Bryopsidaceae	2	6
	Codiaceae	1	4
	Derbesiaceae	1	1
	Udoteaceae	1	1
Cladophorales	Boodleaceae	1	1
	Cladophoraceae	4	17
	Siphonocladaceae	1	1
	Valoniaceae	1	2
Ulotriconales	Ulotriconaceae	1	1
Ulvales	Kornmanniaceae	1	2
	Phaeophilaceae	1	1
	Ulvaceae	1	10
	Ulvellaceae	1	1
4	13	17	48

3.5.3. Comparison of total species from each sites studied

In a comparison of the total of taxa identified in the seven study sites, the littoral of Cala iris and Rmod are found to contain the highest number of taxa, 150 and 157 taxa respectively, which represents 74 % of the total number of taxa found in this overall study occurred in at those two sites. Following by Tala Youssef with an intermediate species richness of 99 taxa.

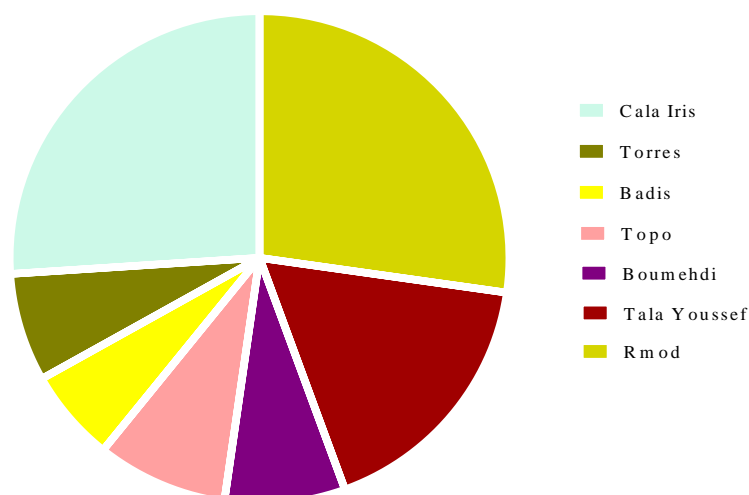


Figure 3.3. Comparison of total species from each sites studied

3.5.4. Comparison of the total of our seaweeds flora with authors studies

Using present-day taxonomy, 307 taxa of marine algae have been registered from the Al-Hoceima National Park in this investigation. The data were amended and complemented by the bibliographic analysis of the following works ([González-García & Conde-Poyales 1994](#) and [González-García et al., 2017](#)). Among the 307 taxa, 96 species were not found in our samples and 93 were newly reported to the Park, and the taxonomic identity of 30 taxa was amended (**Figure 3.3**).

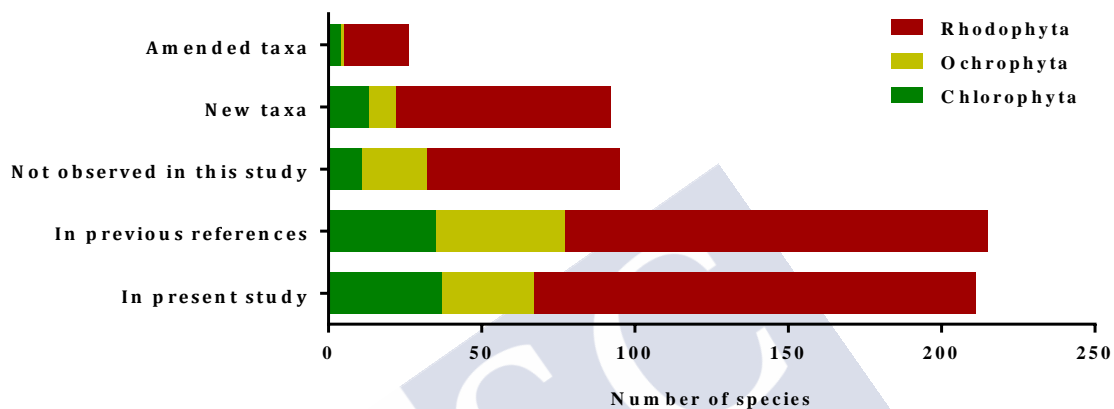


Figure 3.4. Detailed comparison of the PNAH seaweed flora: our study and previous works

In comparison with the checklist of seaweed of Morocco ([Benhissoune et al., 2001, 2002a, 2002b, 2003](#)), our checklist found to contain more than two-third (307 vs. 403) of the species recorded in the Mediterranean coast of Morocco, which represent a high percentage (76%) (**Figure 3.4**).

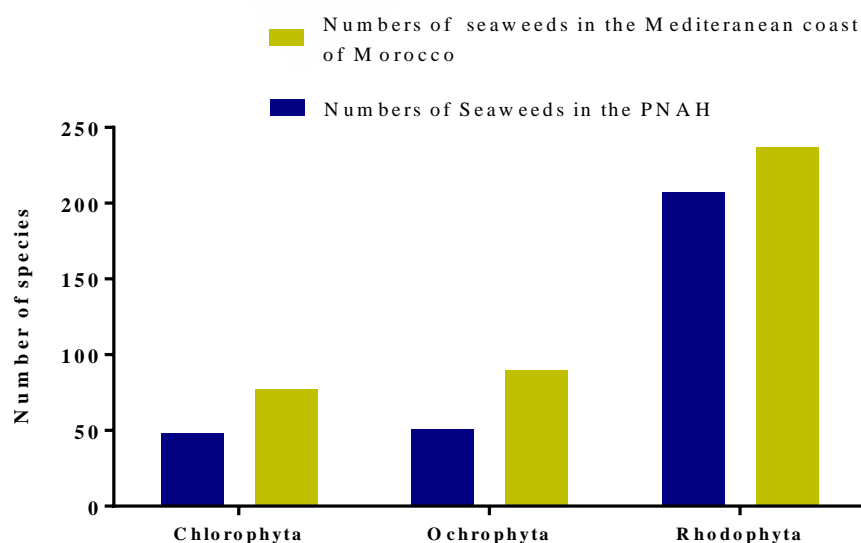


Figure 3.5. Numbers of species of seaweeds listed in the Mediterranean coast of Morocco ([Benhissoune et al., 2001, 2002a, b, 2003](#)) and Al-Hoceima National Park (this study).

3.6. Conclusion

In conclusion, to the best of our knowledge, this is the first inclusive seaweeds checklist of Al-Hoceima National Park. The seaweeds catalogue encompasses 307 taxa, which represent more than two-third of the total species reported in the Mediterranean shore of Morocco. This fact evidences that Al-Hoceima National Park of Morocco has a great diversity of species. Moreover, this study showcases the need for more phycological studies in other localities along the Mediterranean coast of Morocco, in order to clarify their algal biodiversity.

Publishing this checklist will improve its accessibility to the international society. Furthermore, the seaweed diversity information provided in this catalogue could serve as an infrastructure for future phycological investigations of the taxa in this Specially Protected Area of Mediterranean Importance.

3.7. Acknowledgements

The authors are indebted to the RODPAL organization, especially Mr. Hakim Messaoudi, for their support with the administrative and logistic assistance during the expeditions to Al-Hoceima National Park. We thank Mr. Hamid Kaouass for his collaboration in the production of the PNAH map. We express our gratitude towards Dr Michael J. Wynne (University of Michigan) for identified, gave complementary information and for supplying the hard-to-find literature about the newly species. Special thanks are given to Dr. Michael Guiry for his help with retrieving the taxonomic status of some species.

3.8. References

- Agardh, C. A. (1811) [1810-1812]. *Dispositio algarum Sueciae...* Pp 17-26. Litteris Berlingianis Lundae [Lund].
- Altamirano, M., de la Rosa, J., Zanolla, M., Souza-Egipsy, V. & Diaz, J. (2010). New records for the Benthic Marine Flora of Chafarinas Islands (Alborán Sea, Western Mediterranean). *Acta Bot. Malacit.*, 165-167.
- Ballesteros, E. (1990). Check-list of benthic marine algae from Catalonia (north-west Mediterranean). *Treballs de l'Institut Botànic de Barcelona*, 13, 5–52.
- Barros-Barreto, D., Beatriz, M., McIvor, L., Maggs, C.A. & Gomes Ferreira, P.C. (2006). Molecular systematics of *Ceramium* and *Centroceras* (Ceramiaceae, Rhodophyta) from Brazil. *J. Phycol.*, 42: 905-921.
- Benhissoune, S., Boudouresque C.F. & Verlaque, M. (2001). A check-list of marine seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. I. Chlorophyceae. *Bot. Mar.*, 44: 171–182.
- Benhissoune, S., Boudouresque C.F. & Verlaque, M. (2002a). A check-list of marine seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. II. Phaeophyceae. *Bot. Mar.*, 45: 217–230.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C. F., Perret-Boudouresque, M. & Verlaque M. (2002b). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. III. Rhodophyceae (excluding Ceramiales). *Bot. Mar.*, 45: 391–412.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F., Perret-Boudouresque, M. & Verlaque M. (2002b). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. IV. Rhodophyceae Ceramiales. *Bot. Mar.*, 46: 55–68.
- Bueno del Campo, I. & González-García, J.A. (1996). *Guía marina de la región de Melilla. Colección Ensayos Melillenses*. Fundación Municipal Sociocultural. Excmo. Ayuntamiento de Melilla, Melilla, 276 pp.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C. N., Corbera, J., Dailianis, T., Estrada, M., Frogli, C., Galil, B. S., Gasol, J.M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., Kitsos, M. S., Koukouras, A., Lampadariou, N., Laxamana, E., López-Fé de la Cuadra, C. M., Lotze, H. K., Martin, D., Mouillot, D., Oro, D., Raicevich, S., Rius-Barile, J., Saiz-Salinas, J. I., San Vicente, C., Somot, S., Templado, J., Turon, X., Vafidis, D., Villanueva, R. & Voultsiadou, E. (2010). The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *PLoS ONE*, 5 (8), e11842. doi:10.1371/journal.pone.0011842.
- Conde Poyales, F. (1984). Contribución al conocimiento de la flora algal bentónica del Mar de Alborán, Islas Chafarinas. *Acta Bot. Malacit.*, 9: 41-46.
- Conde Poyales, F. (1989). Ficogeografía del mar de Alborán en el contexto del Mediterráneo occidental. *Anal. Jard. Bot. Madrid*, 46: 21-26.

- Cormaci, M. & Furnari, G. (1991). The distinction of *Ceramium giaccone* sp. nov. (Ceramiales, Rhodophyta) in the Mediterranean Sea from *Ceramium cingulatum*. *Cryptogam. Algol.*, 12 (1): 43-53.
- Cormaci, M., Furnari, G. & Alongi, G. (2014). Flora marina bentonica del Mediterraneo: Chlorophyta. *Boll. Sedute. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania*, 47: 11-436.
- Cormaci, M., Furnari, G. & Alongi, G. (2017). Flora marina bentonica del Mediterraneo: Rhodophyta (Rhodymeniophycidae escluse). *Boll. Sedute. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania*, 50 (380): 1-391.
- Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G. & Serio, D. (2004). Alien macrophytes in the Mediterranean Sea: a review. *Recent Res. Develop. Environ. Bio.*, 1: 153- 202.
- Cormaci, M., Furnari, G., Catra, M., Alongi, G. & Giaccone, G. (2012). Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae. *Boll. Sedute. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania*, 45 (375): 1-508.
- Dangeard, P. (1949). Les algues marines de la côte occidentale du Maroc. *Le Botaniste*, 34: 89–189.
- Flores-Moya, C. & Conde Poyales, F. (1998). Nuevas citas de macroalgas marinas para las islas Chafarinas. *Acta Bot. Malacit.*, 23: 197-199.
- Furnari, G., Giaccone, G., Cormaci, M., Alongi, G. & Serio, D. (2003). Marine biodiversity of Italian coasts: catalogue of the macrophytobenthos. *Bio. Mar. Med.*, 10 (1): 3-482.
- Gómez Garreta, A., Gallardo, T., Ribera, M.A., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G. & Boudouresque, C.F. (2001a). Check-list of Mediterranean Seaweed. III. Rhodophyceae Rabenh. 1. Ceramiales Oltm. *Bot. Mar.*, 44 (5): 425-460
- González-García, J.A. (1994). *La flora marina de Melilla. Colección Ensayos Melillenses*. Fundación Municipal Sociocultural. Excmo. Ayuntamiento de Melilla, Melilla, 212 pp.
- González García, J.A. & Conde Poyaes F. (1994). Catálogo del macrofitobentos del Mediterráneo de Marruecos. *Acta Bot. Malacit.*, 19: 5–27.
- González García, J.A. & Conde, F. (1991). Estudio florístico, fenológico, autoecológico y fitogeográfico del macrofitobentos de la Mar Chica (Sebcha Buareg de Nador, Mediterráneo Marroquí). *Acta Bot. Malacit.*, 16: 63-80.
- González García, J.A., Paredes Ruiz, P. & Mirón, C.E. (2017). Catálogo de Macroalgas de los Peñones de Alhucemas y vélez de la gomera (Mediterráneo Occidental, Mar de Alborán). *Algas*, 53: 33–38.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2019). *AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway*. <http://www.algaebase.org>. (Assessed 14 October 2019).
- Hassoun, M., Wynne, M.J., Moussa, H., Salhi, G., Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzak, M. (2018). An investigation of members of the tribe Ceramieae (Ceramiales, Rhodophyta) occurring on the Mediterranean and Atlantic shores of Morocco. *Algae*, 33(3): 243-267. <https://doi.org/10.4490/algae.2018.33.8.29>.

- Hassoun, M., Salhi, G., Bouksir, H., Moussa, H., Riadi, H. & Kazzak, M. (2014). *Codium tomentosum* var. *mucronatum* et son epiphyte *Aglaothamnion pseudobyssoides*, deux nouvelles espèces d'algues benthiques pour la phycoflore du Maroc. *Acta Bot. Malacit.*, 39: 37-44.
- Hassoun, M., Moussa, H., Salhi, G., Zbakh, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2018). New records of benthic marine algae from Morocco. *Acta Bot. Malacit.*, 43. <http://dx.doi.org/10.24310/abm.v43i0.3265>.
- Hassoun, M., Moussa, H., Zbakh, H., Riadi, H., Kazzaz, M. & Salhi, G. (2015). First record of *Polyneura bonnemaisonii* (Delesseriaceae, Rhodophyta) from the Atlantic Ocean of Africa. *Mar. Biodivers. Rec.*, 8, e139. <https://doi.org/10.1017/S1755267215001190>.
- Hassoun, M., Salhi, G., Kazzaz, M., Riadi, H. & Moussa, H. (2016a). New records of *Polysiphonia sensu lato* from the Atlantic Ocean in Morocco. *Mar. Biodivers.*, 46(2): 443-449. <https://doi.org/10.1007/s12526-015-0387-8>.
- Hassoun, H., Salhi, G., Moussa, H., Riadi, H., Kazzaz, M. & Zbakh, H. (2016b). *Ceramium cornutum* and *Ceramium pallidum* (Rhodophyta: Ceramiales) two new records for Morocco: morphology and reproductive structures. *Bot. Lett.*, 163 (1): 25-31.
- John, D.M., Price, J.H., Maggs, C.A. & Lawson, G.W. (1979). Seaweeds of the western coast of tropical Africa and adjacent islands: a critical assessment. III. Rhodophyta (Bangiophyceae). *Bull. British Mus. (Natural History) Botany*, 7: 69-82.
- Katsanevakis, S., Acar, Ü., Ammar, I., Balci, B.A., Bekas, P., Belmonte, M., Chintiroglou, C. C., Consoli, P., Dimiza, M., Fryganiotis, K., Gerovasileiou, V., Gnisci, V., Gülşahin, N., Hoffman, R., Issaris, Y., Izquierdo-Gomez, D., Izquierdo-Munoz, A., Kavadas, S., Koehler, L., Konstantinidis, E., Mazza, G., Nowell, G., Önal, U., Özen, M. R., Pafilis, P., Pastore, M., Perdikaris, C., Poursanidis, D., Prato, E., Russo, F., Sicuro, B., Tarkan, A. N., Thessalou-Legaki, M., Tiralongo, F., Triantaphyllou, M., Tsiamis, K., Tunçer, S., Turan, C., Türker, A. & Yapici, S. (2014). New Mediterranean biodiversity records. *Medit. Mar. Sci.*, 15(3): 675-695.
- Kazzaz, M. (1989). *Contribution à l'étude de la flore algale marine de la région Ouest de la Méditerranée*. MSc Thesis. Université Mohammed V, Morocco, 246 pp.
- Maggs, C.A., Ward, B.A., McIvor, L.M., Evans, C.M., Rueness, J. & Stanhope, M.J. (2002). Molecular analyses elucidate the taxonomy of fully corticated, nonspiny species of *Ceramium* (Ceramiales, Rhodophyta) in the British Isles. *Phycologia*, 41: 409-420.
- Maggs, C.A. & Hommersand, M.H. (1993). *Seaweeds of the British Isles Vol. 1. Rhodophyta Part A, 3. Ceramiales*. Natural History Museum, London, 444 pp.
- Moussa, H., Wynne, M. J., Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H. Kazzaz, M. & Riadi, H. (2015). On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco). *Bot. Mar.*, 58 (6): doi: <http://dx.doi.org/10.1515/bot-2015-0048>.
- Navarro, M.J. & Gallardo. T. (1989). Aportación al conocimiento de la flora bentónica de las costas mediterráneas africanas occidentales. *Bot. Complut.*, 15: 203-214.

- Ni-Ni-Win, Hanyuda, T., Draisma, S.G.A, Furnari, G., Meinesz, A. & Kawai, H. (2011). *Padina ditristromatica* sp. nov. and *Padina pavonicoides* sp. nov. (Dictyotales, Phaeophyceae), two new species from the Mediterranean Sea based on morphological and molecular markers. *Europ. J. Phycol.*, 46 (4): 327-341.
- PNUE-PAM-CAR/ASP, (2009). *Report of Meeting of MED Pol Focal Points*. UNEP (DEPI)/MED WG. 337/inf.6. Meeting of MAP Focal Points, Athens, Greece, 97 pp.
- Riadi, H., Salhi, G., Boukssir, H., Moussa, H. & Hassoun, M. (2013). *Acrosymphyton purpuriferum* (J. Agardh) Sjöstedt et *Balliella cladoderma* (Zanardini) Athanasiadis, deux nouvelles espèces d'algues benthiques de la Méditerranée marocaine. *Bull. Instit. Sci. Rabat, Section Sciences de la Vie*, 35: 9–14.
- Riadi, H., Salhi, G., Saoud, Y., Kadiri, M. & Kazzaz, M. (2011). Nuevas aportaciones a la flora algal de las costas marroquíes. *Acta Bot. Malacit.*, 36: 161–163.
- Ribera, M. A., Garreta, A.G., Gallardo, T., Cormaci, M., Furnari, G. & Giaccone, G. (1992). Check-list of Mediterranean seaweeds. I. Fucophyceae (Warming, 1884). *Bot. Mar.*, 35 (2): 109-130.
- Salhi, G., Hassoun, M., Moussa, H., Zbakh, H., Kazzaz, M. & Riadi, H. (2019). First record of the red alga *Tiffaniella gorgonea*: an introduced species in the Mediterranean Sea. *Bot. Mar.*, Doi: <https://doi.org/10.1515/bot-2017-0129>.
- Tsiamis, K., Panayotidis, P., Economou-Amilli, A. & Katsaros, C. (2013). Seaweeds of the Greek coasts. I. Phaeophyceae. *Med. Mar. Sci.*, 14: 141–157.
- Tunesi, L., Mo, G., Salvati, E., Molinari, A., Rais, C. Limam, A., Benhamza, A., Benhissoune, S., Nachite, D., Zeichen, M., Agnesi, S., Di Nora, T., Piccione, M. E., Bazairi, H. & Sadki, I. (2003). *Rapport global des travaux de prospection de la partie marine du Parc National d'Al-Hoceima*. Projet Régional pour le Développement d'Aires Protégées Marineset Côtières dans la Région Méditerranéenne (Projet MedMPA). CAR/ASPPAM–PNUE, 111 pp.
- Limam, A., Benhamza, A., Benhissoune, S., Nachite, D., Zeichen, M., Agnesi, S., Di Nora, T., Piccione, M. E., Bazairi, H. & Sadki, I. (2003). Rapport global des travaux de prospection de la partie marine du Parc National d'Al-Hoceima. Projet Régional pour le Développement d'Aires Protégées Marineset Côtières dans la Région Méditerranéenne (Projet MedMPA). CAR/ASPPAM–PNUE. 111 pp.
- Verlaque, M., Ruitton, S., Mineur, F. & Boubouresque, C.F. (2015). *CIESM Atlas of Exotic Species in the Mediterranean. Vol. 4. Macrophytes*. CIESM Publishers, Monaco, 362 pp.
- Won, B.Y., Cho, T.O. & Fredericq, S. (2009). Morphological and molecular characterization of species of the genus *Centroceras* (Ceramiaceae, Ceramiales), including two new species. *J. Phycol.*, 45: 227-250.

Chapitre 4

ON THE OCCURRENCE OF THREE RED ALGAL SPECIES NEW TO THE MEDITERRANEAN SEA IN AL-HOCEIMA NATIONAL PARK (MOROCCO)



On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco)

Hanaa Moussa^{1*}, Michael J. Wynne², Mustapha Hassoun¹, Ghizlane Salhi¹, Hanaa Zbakh¹, Mohamed Kazzaz¹ and Hassane Riadi¹

¹ Applied Algology-Mycology Group, Ecology, Biodiversity and Environment Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, Abdelmalek Essaâdi University, 93000, BP. 2121, M'Hannech II, Tétouan, Morocco.

² Department of Ecology and Evolutionary Biology and Herbarium, University of Michigan, Ann Arbor, MI 48109, USA.

**Corresponding author.*

Ecology, Biodiversity and Environment Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, Abdelmalek Essaâdi University, 93000, BP. 2121, M'Hannech II, Tétouan, Morocco.

Tel: +212 5 39 97 23 44. Fax: +212 5 39 99 75 00.

E-mail address: moussa.hanaa-etu@uae.ac.ma

Modified from published article: **Moussa, H.**, Wynne, M. J., Hassoun, M., Salhi, G., Zbakh, H. Kazzaz, M. & Riadi, H. (2015). On the occurrence of three red algal species new to the Mediterranean Sea in Al-Hoceima National Park (Morocco). *Botanica Marina*, 58 (6).

DOI: 10.1515/bot-2015-0048

4.1. Résumé

La présente étude a été entreprise pour améliorer nos connaissances sur la diversité des algues marines de la côte méditerranéenne. Dans ce contexte, nous avons ajouté pour la première fois à la liste de la phycophlore de la Méditerranée trois espèces de Rhodophycées originaires de la côte méditerranéenne du Maroc: *Champia compressa* Harvey, *Polysiphonia havanensis sensu* Børgesen non Montagne et *Diplothamnion jolyi* van den Hoek. Les trois nouvelles algues rouges ont été collectées dans le Parc National d'Al-Hoceima, une zone protégée de la Méditerranée.

Mots clés :

Champia compressa; *Diplothamnion jolyi*; Méditerranée; Maroc; *Polysiphonia havanensis sensu* Børgesen.

4.2. Abstract

The occurrence in Morocco of three species of red algae new to the Mediterranean Sea is reported: *Polysiphonia havanensis sensu* Børgesen (Ceramiales, Rhodomelaceae), *Diplothamnion jolyi* (Ceramiales, Wrangeliaceae), and *Champia compressa* (Rhodymeniales, Champiaceae). All were collected in Al-Hoceima National Park, a protected area of the Mediterranean coast of Morocco.

Keywords: *Champia compressa*; *Diplothamnion jolyi*; Mediterranean Sea; Morocco; *Polysiphonia havanensis sensu* Børgesen.

4.3. Introduction

The Mediterranean Sea represents only 0.82% in surface area and 0.32% in volume of the world's oceans. Nevertheless, it is considered to be a major site for marine biodiversity, with 16.9% of the world's marine species (Bianchi & Morri 2000).

Many researchers have investigated the algal biodiversity of the Mediterranean (Ballesteros 1990; Ribera *et al.*, 1992; Gómez Garreta *et al.*, 2001; Furnari *et al.*, 2003; Cormaci *et al.*, 2004; Ni-Ni-Win *et al.*, 2011; Cormaci *et al.*, 2012; Tsiamis *et al.*, 2013; Katsanevakis *et al.*, 2014). Coll *et al.*, (2010) listed 1124 species of marine algae occurring in the Mediterranean Sea, including 657 species of Rhodophyceae, representing the richest group. However, this estimate of algal diversity is still incomplete as it is easily foreseeable that yet-undescribed species and new records will be added in the future.

In recent years, there has been an increasing interest in the Moroccan algal biodiversity. Nonetheless, the benthic marine algal flora of the Moroccan coast has, to date, been rather poorly studied (Benhissoune *et al.*, 2001, 2002a, b, 2003). We recently reported 20 taxa as new additions to the marine flora of Morocco (Riadi *et al.*, 2011, 2013; Hassoun *et al.*, 2014, 2015a, b).

On the Moroccan Mediterranean coast, the National Park of Al-Hoceima (PNAH), classified in 2009 by the United Nations as a Specially Protected Area of Mediterranean Importance (PNUE-PAM-CAR/ASP 2009), shows very high species richness along its 40 km of coastline, comparable to major hotspots of Mediterranean biodiversity. A total of 264 species have been reported in the PNAH (Tunesi *et al.*, 2003).

The present investigation was undertaken to increase our knowledge of the marine algal biodiversity of the Mediterranean coast. In this context, we report three species of Rhodophyceae for the first time from the Mediterranean Sea: *Champia compressa* Harvey, *Polysiphonia havanensis sensu* Børgesen non Montagne and *Diplothamnion jolyi* van den Hoek.

4.4. Materials and Methods

All specimens were collected during field studies in all seasons between 2012 and 2014 in the midlittoral and upper sublittoral zones along the coast of the Al-Hoceima National Park in Morocco. The PNAH occupies 40 km of coastline and possesses a dry Mediterranean climate with mild winters and hot summers.

These species were found at four different sites from PNAH: Cala Iris (35°09'03.4"N, 4°22'00.7"W), Torres (35°09'25.1"N, 4°20'01.6"W) Tala Youssef (35°14'11.7"N, 3°58'55.5"W) and Rmod (35°14'41.5"N, 3°57'55.7"W) (**Figure 4.1**).

The plants were transported to the laboratory and stored in 5% buffered formalin-seawater solution. Specimens were studied using light microscopy and sectioned manually with a razor blade. When necessary, permanent material was stained with 1% aqueous aniline blue.

Photomicrographs were taken using a Panasonic Lumix DMC-FS16 digital camera (Osaka, Japan) coupled to a Nikon microscope (SFC-28, Japan). The studied specimens were deposited in the Phycological Herbarium of the Phycology and Mycology Laboratory [= HTET], Faculty of Sciences, Abdelmalek Essaâdi University, Tetouan, Morocco.

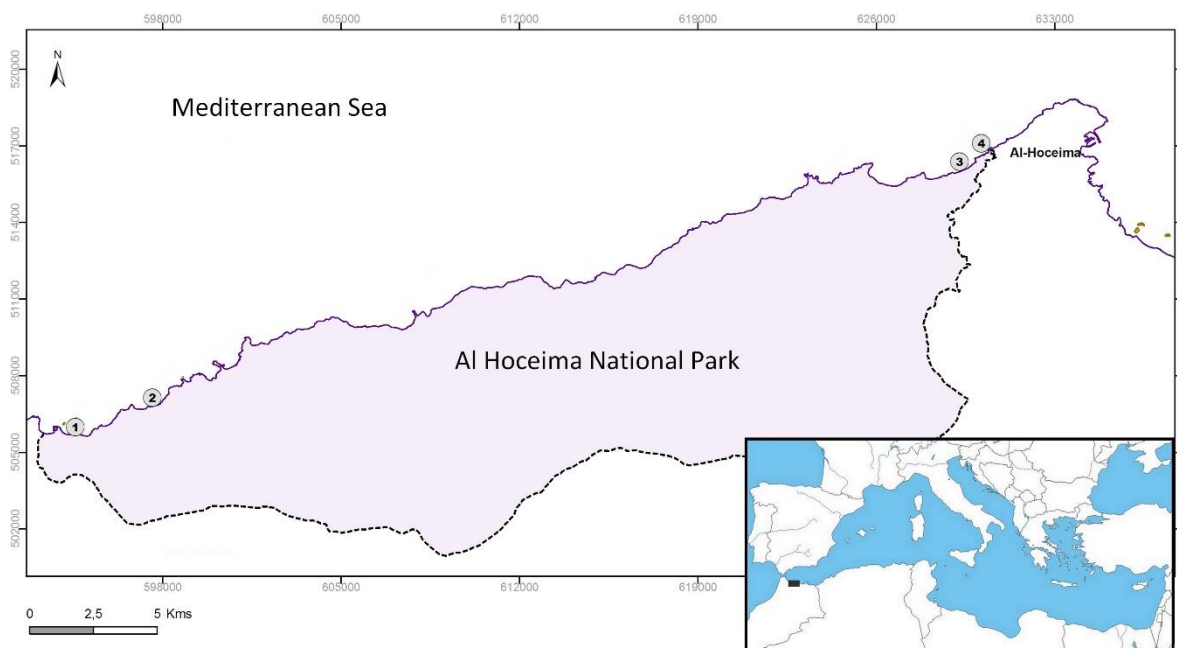


Figure 4.1. Geographical location of the collection sites in the Al-Hoceima National Park, northeast of Morocco ‘Mediterranean Sea’: 1- Cala Iris, 2- Torres, 3- Tala Youssef, 4- Rmod (Réalisation, M Hassoun).

4.5. Results and discussion

4.5.1. *Polysiphonia havanensis* sensu Børgesen non Montagne (Figures 4.2–11)

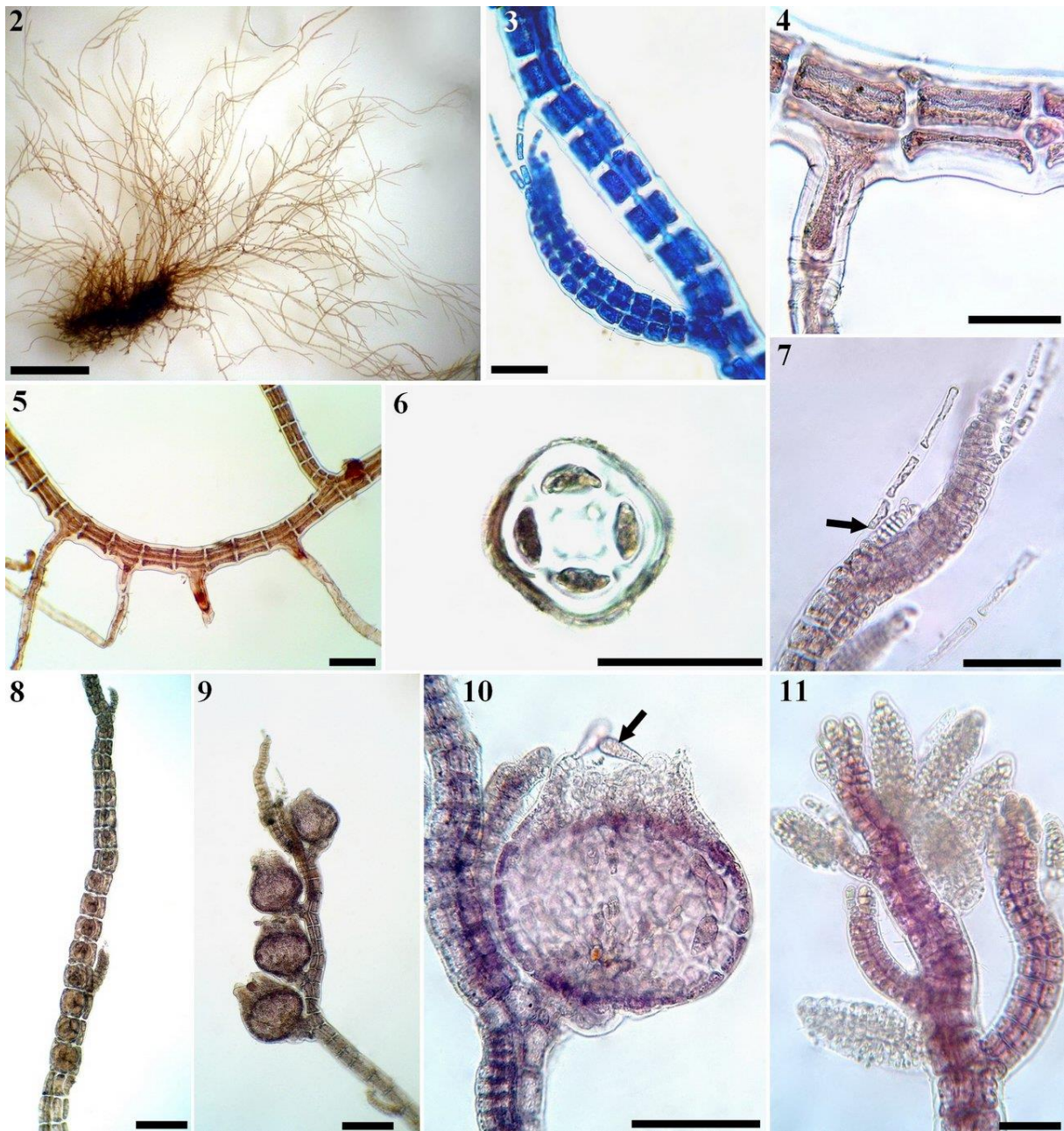
Habitat and collections

Specimens were collected in November 2012 and April 2013 at Rmod and in May 2014 at Talla Youssef, growing as epiphytes on *Nemalion elminthoides* (Velley) Batters. The species occurs in the middle intertidal on a rocky substrate area. They were assigned the numbers: HTET 744, 751 and 752.

Description

Algae reddish-brown, thalli reaching a height of up to 2.5 cm (**Figure 4.2**), composed of prostrate and erect axes; main axes dichotomously to pseudodichotomously branched, with an abundance of adventitious branchlets (**Figure 4.3**). The prostrate filaments are fixed to the substratum by numerous unicellular rhizoids, developing from the median or posterior position of pericentral cells with which they remain in open connection (**Figure 4.4**). Prostrate axes 130–140 μm in diameter (**Figure 4.5**), the erect axes up to 120 μm in diameter at the base, gradually narrowing distally after each branching to only 30 μm ; there are 4 pericentral cells per segment (**Figure 4.6**). All axes are ecorticate; branches develop in the axils of trichoblasts, which are up to 200 μm long and 10 μm in diameter (**Figure 4.7**).

Tetrasporangia, with a diameter varying between 40 and 60 μm , are arranged in long spiral series, up to 12 tetrasporangia in a fertile branch (**Figure 4.8**). Procarps with a four-celled carpogonial branch. Cystocarps ovoid when mature, averaging 250 μm in diameter and 300 μm in height (**Figures 4.9** and **4.10**). Spermatangial branches up to 120 μm in diameter and 200 μm long, usually without sterile tip cells (**Figure 4.11**). Moroccan *Polysiphonia havanensis* gametophytes were dioecious, and all reproductive plants were collected in the spring.



Figures 4. 2–11. *Polysiphonia havanensis*. (2) Habit. Scale bar, 0.5 cm. (3) Adventitious branch. Scale bar, 50 μm . (4) Rhizoids in open connection with the pericentral cell. Scale bar, 100 μm (5) Prostrate axis. Scale bar, 200 μm . (6) Transverse section through prostrate axis with four pericentral cells. Scale bar, 100 μm . (7) Apical part of main axis showing a lateral branch developing in the axil of a trichoblast (arrow). Scale bar, 100 μm . (8) Reproductive branches with spiral series of tetrasporangia. Scale bar, 100 μm . (9) Cystocarps on upper part of an erect axis. Scale bar, 200 μm . (10) Main axis bearing a cystocarp on a short stalk, which is releasing a carpospore (arrow). Scale bar, 100 μm (11) Branch apex with spermatangial branchlets. Scale bar, 100 μm .

Remarks:

Polysiphonia havanensis was described by Montagne (1837) from Havana, Cuba. According to Ardré (1970), who studied the holotype in Herbarium Montagne in PC, the species is very similar to *P. macrocarpa* Harvey *nom. illeg.* (now known as *Polysiphonia atlantica*

Kapraun and J.N. Norris) but, in the absence of fertile structures, Ardré did not support with certainty such a synonymy. However, she stated that the species as described by Børgesen (1918) is distinct from Montagne's taxon.

Polysiphonia havanensis has a limited distribution in the eastern Atlantic Ocean. It has been reported from the Canary Islands (Lawson *et al.*, 1995; Haroun *et al.*, 2002; Gil-Rodriguez *et al.*, 2003; John *et al.*, 2004; Anon 2011), Madeira (Neto *et al.*, 2000; John *et al.*, 2004), Salvage Islands (Audiffred & Weisscher 1984, John *et al.*, 2004) and the Azores (Neto 1994). The above records all apparently conform to Børgesen's description, and they should be referred to as *P. havanensis sensu* Børgesen. Our specimens also correspond to previous accounts of this species made by Børgesen (1918), Kapraun *et al.*, (1983) and Mamoozadeh & Freshwater (2012). Therefore, as *P. havanensis* Montagne is known with certainty only from the type locality, it should be regarded as a taxon of uncertain taxonomic status (Kapraun *et al.*, 1983).

According to Mamoozadeh and Freshwater (2012), Ardré (1970) and Kützing (1863) indicated that *Polysiphonia havanensis* Montagne was originally described as having spiraled pericentral cells in segments of older axes and lacking trichoblasts. An absence of spiraling of pericentral cells, numerous conspicuous trichoblasts, and scar cells in every segment in a spiral pattern have been reported for *P. havanensis sensu* Børgesen (Børgesen 1918; Kapraun 1977; Mamoozadeh & Freshwater 2012). Furthermore, reproductive structures are unknown for *P. havanensis* Montagne as both the original and Kützing's 1863 description include only vegetative thalli. *Polysiphonia havanensis sensu* Børgesen still needs a validly published name (Mamoozadeh & Freshwater 2012).

The genus *Polysiphonia* is represented in Morocco by 26 species, 10 of which have four pericentral cells, such as ours (Hassoun *et al.*, 2015a; Riadi *et al.*, 2011; Benhissoune *et al.*, 2003; Gómez Garreta *et al.*, 2001; Kazzaz & Riadi 2000; González & Conde 1991, 1994).

Among the above species, the most similar to *P. havanensis sensu* Børgesen is *P. sertularioides* (Grateloup) J. Agardh. Both species are characterized by an ecorticate thallus, presence of four pericentral cells and branches developing in the axils of trichoblasts. The main difference between them is that the rhizoids of *P. havanensis sensu* Børgesen are in open connection with the pericentral cells, contrary to the rhizoids of *P. sertularioides*, which are cut off from the pericentral cells.

Because of all these characters, Nam and Kang (2012) placed this latter species in the genus *Neosiphonia* as *Neosiphonia sertularioides* (Grateloup) K.W. Nam and P.J. Kang. Our species

also resembles *Polysiphonia devoniensis* Maggs and Hommersand, which has already been reported from Portugal (Bárbara *et al.*, 2012) and Spain (Díaz *et al.*, 2008; Bárbara *et al.*, 2012). The species are similar in most respects, except that branches do not arise in the axils of trichoblasts in *P. devoniensis* (Maggs & Hommersand 1993), but are in the axils of trichoblasts in our specimens.

4.5.2. *Diplothamnion jolyi* van den Hoek (Figures 12–17)

Distribution

The species is widely distributed in the Atlantic Ocean. It has been reported from Bermuda (Schneider & Searles 1997), the Canary Islands (Gil-Rodríguez *et al.*, 2003; John *et al.*, 2004), and from the Caribbean islands (Wynne 2011). The species has also been reported from the Pacific Ocean: the Federated States of Micronesia (Lobban & Tsuda 2003; Tsuda 2006), the Hawaiian Islands (Abbott 1999) and in the northwestern Hawaiian Islands (Tsuda 2014).

Habitat and collection

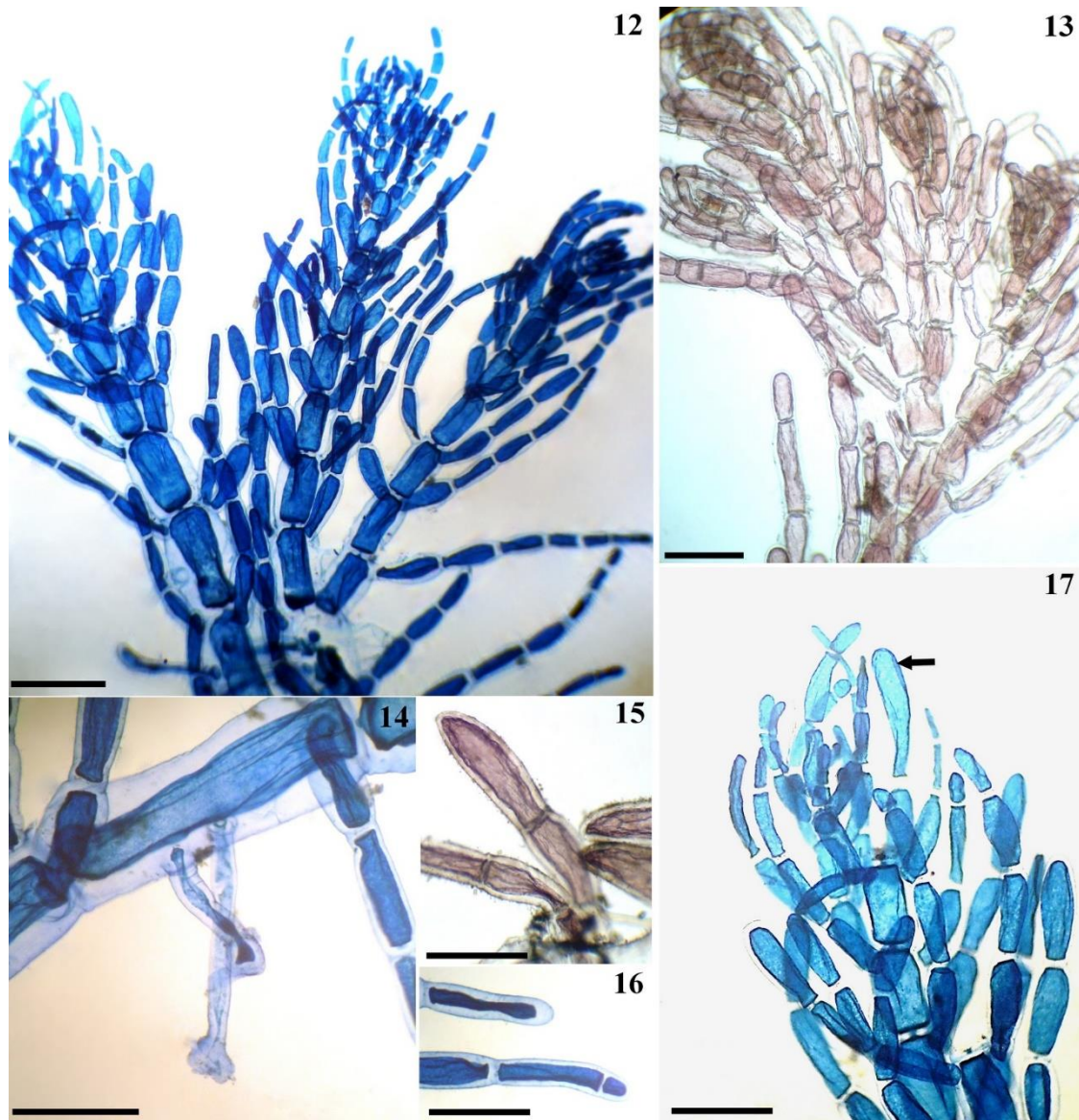
The species was collected in August 2012 at Cala Iris, in May 2014 at Rmod as an epiphyte on *Jania longifurca* Zanardini, and in January 2014 at Tala Youssef as an epiphyte on *Boergeseniella fruticulosa* (Wulfen) Kylin, where the species grows in the lower midlittoral and upper infralittoral zones. The collections were HTET 763 and 777.

Description

Thalli pink to purplish-red, delicate, with uniseriate, ecorticate branches, with axes up to 1 cm in height and 20–60 μm in diameter (Figure 4.12). Plants have stoloniferous, prostrate axes 40–80 μm in diameter, attached by unicellular digitate rhizoids, 14–22 μm in diameter and 1.3 mm in length (Figure 4.14). Each cell of an erect filament bears a pair of distally inserted opposite whorl-branchlets with a decussate arrangement (Figure 4.12–13).

The terminal cells of whorl branches, 15–55 μm in diameter, show acute (Figure 4.15) or rounded apices, or diminutive end cells (Figure 4.16). The apical cells are occasionally thicker than the basal cells of branches (Figure 4.17).

All specimens collected in different seasons were vegetative.



Figures 4. 12–17. *Diplothamnion jolyi*. (12) Habit of the thallus (13) Whorled branching and opposite decussate arrangement of lateral branches; (14) Prostrate axis with unicellular rhizoids; (15) Detail of apical cells with tapered end; (16) Detail of a diminutive end cell; (17) Detail of terminal cells of the whorl-branchlets, showing some swollen apical cells (arrow). Scale bars, 100 μm .

Remarks

Our Mediterranean specimens are in agreement with the original description of *Diplothamnion jolyi* made by van den Hoek (1978) and subsequent accounts by Bucher *et al.*, (1990) and Sansón and Reyes (1994), in terms of both organization and dimensions of the thalli. The type locality of *D. jolyi* is Curaçao, Kingdom of the Netherlands.

Diplothamnion has not previously been reported in the Mediterranean Sea. The genus is represented by three species: the generitype *D. tetrastichum*, *D. jolyi*, and *D. gordoniae* (Table 1). *Diplothamnion jolyi* var. *ecellulare* Bucher and J.N. Norris was also described (Bucher *et al.*, 1990). Var. *ecellulare* differs from the nominate variety by the following features: thalli larger, with many more cells in the main axis and branches, and lacking the diminutive end cells that are present on the apices of some branches of var. *jolyi*.

Moroccan *Diplothamnion jolyi* differs from *D. gordoniae* Huisman, which lacks opposite decussate branchlets (Huisman 1991). At the macromorphological level, *Diplothamnion tetrastichum* Joly and Yamaguishi differs from our specimens in showing two opposite short branches, and lateral branches with a single cell, which bears at its distal end two pointed cells (Joly *et al.*, 1966). These characteristics are not present in our material. In regard to overall size, our thalli appear smaller than other species of the genus (Table 4.1).

Table 4. 1. Comparison of taxa of *Diplothamnion*.

Species	Height (cm)	Diameter of Stolons (µm)	Diameter of erect axes (µm)	Diameter of Apical cells of lateral branchelets (µm)	Diameter of Basal cells of lateral branchelets (µm)	References
<i>Diplothamnion jolyi</i>	0.5-1	40–80	20–60	15–55	22–50	Sansón & Reyes 1994
<i>Diplothamnion jolyi</i> var. <i>ecellulare</i>	1		75–110	30–45	30–54	Bucher <i>et al.</i> , 1990
<i>Diplothamnion gordoniae</i>	1	75–150	45–135	> 135		Huisman 1991
<i>Diplothamnion tetrastichum</i>	1	120-165	135–165	60-105	60-105	Joly <i>et al.</i> , 1966

4.5.3. *Champia compressa* Harvey (Figures 18–24)

Distribution

This species, which was described from False Bay, Cape Province, South Africa (Harvey 1838), has a worldwide distribution (Guiry & Guiry 2019); however, it has not yet been recorded from the eastern coast of the Atlantic Ocean or the Mediterranean Sea.

Habitat and collection

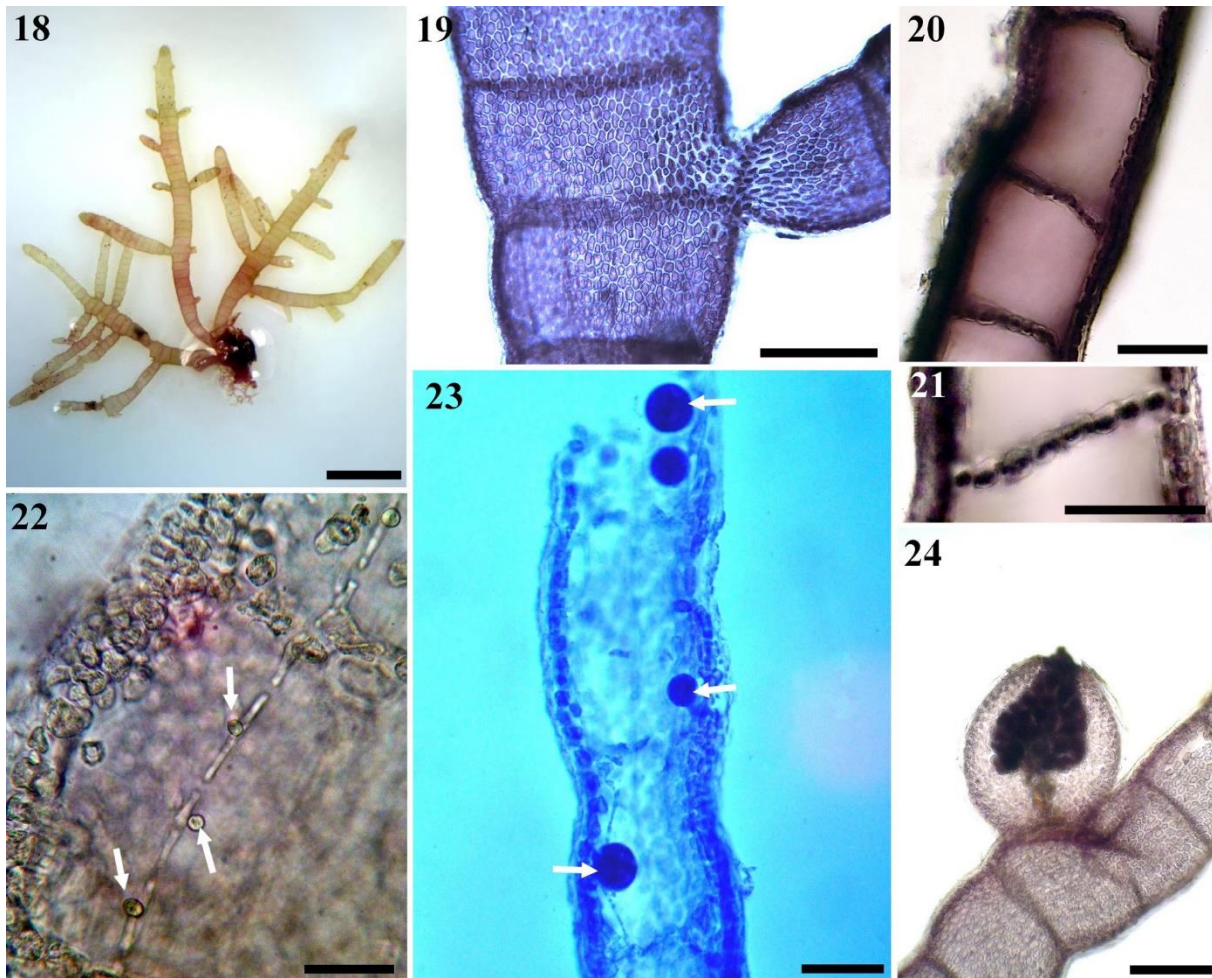
Specimens were collected in October 2012 at Torres, in February 2013 at Cala Iris as epiphytes on *Stypocaulon scoparium* (L.) Kützing, and in February 2013 at Rmod as epiphytes on *Gelidium crinale* (Turner) Gaillon. At both sites, the species grows in the midlittoral in shady rocky environments. The collections were HTET 737 and 745.

Description

Algae pale brownish-red, generally small, axes up to 10–15 mm high and 1.6 mm wide. The thalli are compressed, hollow and filled with mucilage, attached to the substratum by discoid holdfasts. Lateral branches opposite, but sometimes alternate (**Figure 4.18**), clearly segmented with single-layered cellular diaphragms 8–10 cells across and constricted (**Figures 4.19–21**).

Axes are terete near the base and become compressed. The branches are tapered proximally and distally, being broader in median parts. The medulla possesses longitudinal filaments of 8–14 μm in diameter and 80–180 μm long, that cut off small spherical gland cells, up to 15 μm in diameter (**Figure 4.22**).

The tetrasporangia forming small spots located on the segments of branches and branchlets, are up to 50 μm in diameter (**Figure 4.23**). Cystocarps are sessile, arising at the mid portions of segments, about 500 μm in diameter, ovoid, with beak-like ostioles (**Figure 4.24**). Tetrasporophytic plants were observed in the autumn and gametophytes in the winter.



Figures 4. 18–24. *Champia compressa*. (18) Habit. Scale bar, 3 mm. (19) Detail of main axis, showing constricted diaphragms and a constricted branch at the base. Scale bar, 0.5 mm. (20–21) Longitudinal section showing diaphragm with 8 cells across from dorsal to ventral surfaces. Scale bars, 200 µm. (22) Longitudinal section showing spherical gland cells (arrows) and elongate medullary filament cells. Scale bar, 50 µm. (23) Longitudinal section showing tetrasporangia (arrows). Scale bar, 100 µm. (24) Cystocarp. Scale bar, 250 µm.

Remarks

Specimens of *Champia compressa* collected in Cala Iris, Rmod and Torress from the Al-Hoceima National Park are in agreement with the descriptions made by Masuda *et al.*, (2001) and N'Yeurt & Payri (2010). This species can be confused with *Champia vieillardii* Kützing, but the thalli are less flattened and consist of diaphragms that are longer and distinctly constricted. The diaphragms in *C. compressa* are 10–18 cells across, whereas those in *C. vieillardii* do not exceed 3 cells across (Dawson 1954; Millar 1990).

Champia compressa also differs from the other two species of *Champia* occurring in Moroccan coast, namely, *C. parvula* (C. Agardh) Harvey and *C. salicornioides* Harvey (Benhissoune *et al.*, 2002b). In contrast to the compressed axes in *C. compressa*, both *C. parvula* and *C.*

salicornioides are characterized by cylindrical axes and branches (Afonso-Carrillo & Sansón 1999; Ballantine & Lozada-Troche 2008).

4.6. Conclusions

In conclusion, the discovery of the above three species in the Mediterranean Sea represents possible recent introductions due to maritime traffic (transport on the hulls of ships). However, it is also possible that they were overlooked for their relatively small size (i.e. *Diplothamniom jolyi*), or because they were misidentified as other similar common species, e.g., *Polysiphonia havanensis* with *Neosiphonia sertularioides*; *Champia compressa* with *C. parvula* and particularly *C. vieillardii*.

Such new findings indicate that the biodiversity of the Mediterranean marine flora is probably richer than generally thought. Further phycological studies in that Sea, particularly in deep-water habitats and in other less collected environments, will probably further increase the known algal biodiversity of the region.

4.7. Acknowledgements

The authors are grateful to the RODPAL organization, especially Mr. Hakim Messaoudi, for their support with the administrative and logistic assistance during the expeditions to Al-Hoceima National Park. We thank Mr. Hamid Kaouass for his collaboration in the production of the PNAH map. Special thanks are given to the Applied Algology-Mycolology group for valuable comments and suggestions.

4.8. References

- Abbott, I. A. (1999). *Marine red algae of the Hawaiian Islands*. Bishop Museum Press, Honolulu, Hawai'i. pp. 477.
- Afonso-Carrillo, J. & Sansón, M. (1999). *Algas, hongos y fanerógamas marinas de las Islas Canarias: clave analítica*. Servicio de Publicaciones, Universidad de La Laguna, Laguna. pp. 254.
- Ardre, F. (1970). Contribution à l'étude des algues marines du Portugal. I. La flore. *Port. Acta Biol. Sér. B*, 10: 137–555.
- Audiffred, P.A.J. & Weisscher, F.L.M. (1984). Marine algae of Selvagem Grande (Salvage Islands, Macaronesia). *Bol. Mus. Mun. Funchal.*, 36: 5–37.
- Ballantine, D.L. & Lozada-Troche, C. (2008). *Champia harveyana* sp. nov. (Champiaceae, Rhodophyta) from Puerto Rico, Caribbean Sea. *Bot. Mar.*, 51: 388–398.
- Ballesteros, E. (1990). Check-list of benthic marine algae from Catalonia (north-west Mediterranean). *Treb. Inst. Bot. Barc.*, 13: 5–52.
- Bárbara, I., Díaz Tapia, P., Peteiro, C., Berceibar, E., Peña, V., Sánchez, N., Tavares, A. M., Santos, R., Secilla, A., Riera Fernández, P., Bermejo, R. & Garcí, V. (2012). Nuevas citas y aportaciones corológicas para la flora bentónica marina del Atlántico de la Península Ibérica. *Acta Bot. Malacit.*, 37: 5–32.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F. & Verlaque, M. (2001). A check-list of marine seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. I. Chlorophyceae Wille *s. l.* *Bot. Mar.*, 44: 171–182.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F. & Verlaque, M. (2002a). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. II. Phaeophyceae. *Bot. Mar.*, 45: 217–230.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F., Perret-Boudouresque, M. & Verlaque, M. (2002b). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. III. Rhodophyceae (excluding Ceramiales). *Bot. Mar.*, 45: 391–412.
- Benhissoune, S., Boudouresque, C.F., Perret-Boudouresque, M. & Verlaque, M. (2003). A checklist of the seaweeds of the Mediterranean and Atlantic coasts of Morocco. IV. Rhodophyceae-Ceramiales. *Bot. Mar.*, 46: 55–68.
- Bianchi, C. & Morri, C. (2000). Marine biodiversity of the Mediterranean Sea: situation, problems and prospects for future research. *Mar. Pollut. Bull.*, 40: 367–376.
- Børgesen, F. (1918). The marine algae of the Danish West Indies. Part 3. Rhodophyceae (4). *Dan. Bot. Ark.*, 3: 241–304.
- Bucher, K.E., Norris, J.N., Littler, M.M. & Littler, D.S. (1990). Marine algae new to Florida, including *Trichosolen molassensis* sp. nov. (Chlorophyta) and *Diplothamnion jolyi* var. *ecellulare* var. nov. (Rhodophyta). *Cryptogam. Bot.*, 1: 295–307.

- Coll, M., C. Piroddi, J. Steenbeek, K. Kaschner, F. Ben Rais Lasram *et al.* (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PLoS ONE*, 5(8): 1–36.
- Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G. & Serio, D. (2004). Alien macrophytes in the Mediterranean Sea: a review. *Recent Res. Develop. Envir. Biol.*, 1: 153–202.
- Cormaci, M., Furnari, G., Catra, M., Alongi, G. & Giaccone, G. (2012). Flora marina bentonica del Mediterraneo: Phaeophyceae. *Bol. Accad. Gioenia Sci. Nat. Catania*, 45: 1–508.
- Dawson, E.Y. (1954). Marine plants in the vicinity of the Institut Océanographique de Nha Trang, Viet Nam. *Pac. Sci.*, 8: 373–481.
- Díaz, P., Bárbara, I., Secilla, A., Peteiro, C., Calvo, S., Sánchez, N., Santolaria, A., Díez, I., Gallardo, T., Cremades, J. & Gorostiaga, J.M. (2008). Adiciones corológicas a la flora bentónica marina de Cantábrico. *N. Acta Cient. Compostel.*, 17: 177–189.
- Furnari, G., Giaccone, G., Cormaci, M., Alongi, G. & Serio, D. (2003). Marine biodiversity of Italian coasts: catalogue of the macrophytobenthos. *Biol. Mar. Medit.*, 10: 1–482.
- Gil-Rodríguez, M.C., Haroun, R., Ojeda Rodríguez, A., Berecibar Zugasti, E., Domínguez Santana, P. & Herrera Morán, B. (2003). Proctoctista. *In: (L. Moro, J.L. Martín, M.J. Garrido and I. Izquierdo, eds.) Lista de especies marinas de Canarias (algas, hongos, plantas y animales)*. Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente del Gobierno de Canarias, Las Palmas. pp. 5–30.
- Gómez Garreta, A., Gallardo, T., Ribera, M.A., Cormaci, M., Furnari, G., Giaccone, G. & Boudouresque, C.F. (2001). Checklist of the Mediterranean seaweeds. III. Rhodophyceae Rabenh. 1. Ceramiales Oltm. *Bot. Mar.*, 44: 425–460.
- González J.A. & Conde, F. (1991). Estudio florístico, fenológico, autoecológico y fitogeográfico del macrofitobentos de la Mar Chica (Sebcha Buareg de Nador, Mediterráneo Marroquí). *Acta Bot. Malacit.*, 16: 63–80.
- González García J.A. & Conde Poyales, F. (1994). Catálogo del macrofitobentos del Mediterráneo de Marruecos. *Acta. Bot. Malacit.*, 19: 5–27.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. (2019). *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 14 October 2019.
- Haroun, R. J., Gil-Rodríguez, M.C., Díaz de Castro, J. & Prud'homme van Reine, W.F. (2002). A checklist of the marine plants from the Canary Islands (central eastern Atlantic Ocean). *Bot. Mar.*, 45: 139–169.
- Harvey, W.H. (1838). *The genera of South Africa plants, arranged according to the natural system*. Robertson, Cape Town. pp. lxvi + 429.
- Hassoun, M., Salhi, G., Bouksir, H., Moussa, H., Riadi, H. & Kazzaz, M. (2014). *Codium tomentosum* var. *mucronatum* et son epiphyte *Aglaothamnion pseudobyssoides*, deux nouvelles espèces d'algues benthiques pour la phycoflore du Maroc. *Acta Bot. Malacit.*, 39: 37–44.

- Hassoun, M., Salhi, G., Kazzaz, M., Riadi, H. & Moussa, H. (2015a). New records of *Polysiphonia sensu lato* from the Atlantic Ocean in Morocco. *Mar. Biodivers.*, 45: 1-7.
- Hassoun, M., Moussa, H., Zbakh, H., Riadi, H., Kazzaz, M. & Salhi, G. (2015b). First record of *Polyneura bonnemaisonii* (Delesseriaceae, Rhodophyta) from the Atlantic Ocean of Africa. *Mar. Biodivers. Rec.*, 8: 1-4.
- Hoek, C. van den. (1978). Marine algae from the coral reef of Curaçao, Netherlands Antilles. I. Three new and one rarely observed species from the steep fore-reef slope. *Aquat. Bot.*, 5: 47-61.
- Huisman, J.M. (1991). *Diplothamnion gordoniae* sp. nov. (Ceramiaceae, Rhodophyta) from Rottneest Island, Western Australia. *Phycologia*, 30: 117-123.
- John, D.M., Prud'homme van Reine, W.F., Lawson, G.W., Kostermans, T.B. & Price, J.H. (2004). A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands. *Nova Hedwigia Beih.*, 127: 1-339.
- Joly, A.B., Corderio, M., Yamaguishi, N. & Ugadim, Y. 1966 ['1965']. New marine algae from southern Brazil. *Rickia*, 2: 159-181.
- Kapraun, D.F. (1977). The genus *Polysiphonia* in North Carolina, USA. *Bot. Mar.*, 20: 313-331.
- Kapraun, D.F., Lemus, A.J. & Bula-Meyer, G. (1983). Genus *Polysiphonia* (Rhodophyta, Ceramiales) in the tropical western Atlantic: I. Colombia and Venezuela. *Bull. Mar. Sci.*, 33: 881-898.
- Katsanevakis, S., Ü. Acar, I. Ammar, B.A. Balci, P. Bekas *et al.* (2014). New Mediterranean biodiversity records. *Medit. Mar. Sci.*, 15: 675-695.
- Kazzaz, M. & Riadi, H. (2000). Inventaire préliminaire de la phycoflore benthique du littoral Marocain. II. Rhodophyceae. *Acta Bot. Malacit.*, 46: 53-88.
- Kützing, F.T. (1863). *Tabulae phycologicae*. Vol. 13. Nordhausen, Germany. pp. i-iii, 1-31 + 100 pls.
- Lawson, G.W., Woelkerling, W.J., Price, J.H., Prud'homme van Reine, W.F. & John, D.M. (1995). Seaweeds of the western coast of tropical Africa and adjacent islands: a critical assessment. IV. Rhodophyta (Florideae) 5. Genera P. *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.) Bot.*, 25: 99-122.
- Lobban, C.S. & Tsuda, R.T. (2003). Revised checklist of benthic marine macroalgae and seagrasses of Guam and Micronesia. *Micronesica*, 35/36: 54-99.
- Maggs, C.A. & Hommersand, M.H. (1993). *Seaweeds of the British Isles. Vol. I Rhodophyta. Part 3A. Ceramiales*. Natural History Museum, London. pp. 444.
- Mamoozadeh, N.R. & Freshwater, D.W. (2012). *Polysiphonia sensu lato* (Ceramiales, Florideophyceae) species of Caribbean Panama including *Polysiphonia lobophoralis* sp. nov. and *Polysiphonia nuda* sp. nov. *Bot. Mar.*, 55: 317-347.
- Masuda, M., Kogame, K., Kawaguchi, S. & Phang, S.M. (2001). Taxonomic notes on marine algae from Malaysia. V. Five species of Rhodymeniales (Rhodophyceae). *Bot. Mar.*, 44: 81-88.

- Millar, A.J.K. (1990). Marine red algae of the Coffs Harbour region, northern New South Wales. *Austr. System. Bot.*, 3: 293–593.
- Montagne, J.F.C. (1837). Centurie de plantes cellulaires exotiques nouvelles. *Ann. Sci. Nat., Paris, ser. II*, 8: 345–370.
- Nam, K.W. & Kang, P.J. (2012). *Algal flora of Korea. Volume 4, Number 4. Rhodophyta: Ceramiales: Rhodomelaceae: 18 genera including Herposiphonia*. National Institute of Biological Resources, Incheon. pp. 178.
- Neto, A.I. (1994). Checklist of the benthic marine macroalgae of the Azores. *Arquipélago. Ciênc. Biol. Mar.*, 12A: 15–34.
- Neto, A.I., Cravo, D.C. & Haroun, R.T. (2001). Checklist of the benthic marine plants of the Madeira Archipelago. *Bot. Mar.*, 44: 391–414.
- Ni-Ni-Win., Hanyuda, T., Draisma, S.G.A., Furnari, G., Meinesz, A. & Kawai, H. (2011). *Padina ditristromatica* sp. nov. and *Padina pavonicoides* sp. nov. (Dictyotales, Phaeophyceae), two new species from the Mediterranean Sea based on morphological and molecular markers. *Eur. J. Phycol.*, 46: 327–341.
- N'Yeurt, A.D.R. & Payri, C.E. (2010). Marine algal flora of French Polynesia III. Rhodophyta, with additions to the Phaeophyceae and Chlorophyta. *Cryptogam. Algol.*, 31: 3–205.
- PNUE-PAM-CAR/ASP. (2009). Report of Meeting of MED Pol Focal Points. UNEP (DEPI)/MED WG. 337/inf.6. Meeting of MAP Focal Points, Athens, Greece, 7–10 July 2009. pp. 97.
- Riadi, H., Salhi, G., Saoud, Y., Kadiri, M. & Kazzaz, M. (2011). Nuevas aportaciones a la flora algal de las costas marroquíes. *Acta Bot. Malacit.*, 36: 161–163.
- Riadi, H., Salhi, G., Boukssir, H., Moussa, H. & Hassoun, M. (2013). *Acrosymphyton purpuriferum* (J. Agardh) Sjöstedt et *Balliella cladoderma* (Zanardini) Athanasiadis, deux nouvelles espèces d'algues benthiques de la Méditerranée marocaine. *Bull. Inst. Sci., Rabat, Sect. Sci. de la Vie*, 35: 9–14.
- Ribera, M.A., Gómez-Garreta, A., Gallardo, T., Cormaci, M., Furnari, G. & Giaccone, G. (1992). Check-list of Mediterranean seaweeds. I. Fucophyceae (Warming 1884). *Bot. Mar.*, 35: 109–130.
- Sansón, M. & Reyes, J. (1994). Sexual plants of *Diplothamnion jolyi* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands. *Phycologia*, 33: 195–198.
- Schneider, C.W. & Searles, R.B. (1997). Notes on the marine algae of the Bermudas. 2. Some Rhodophyta, including *Polysiphonia tongatensis* and a discussion on the *Herposiphonia secunda/tenella* complex. *Cryptogam. Algol.*, 18: 187–210.
- Tsiamis K., Panayotidis, P., Economou-Amilli, A. & Katsaros, C. (2013). Seaweeds of the Greek coasts. I. Phaeophyceae. *Medit. Mar. Sci.*, 14: 141–157.

- Tsuda, R.T. (2006). Checklist and bibliography of the marine benthic algae within Chuuk, Pohnpei, and Kosrae States, Federated States of Micronesia. *Pacific Biol. Survey, Bishop Museum Tech. Report 34*. Bishop Museum Press, Honolulu, Hawaii. pp. 1–43.
- Tsuda, R.T. (2014). Bibliographic catalogue of the marine benthic algae in the Papahnaumoku kea Marine National Monument (northwestern Hawaiian Islands). *Phytotaxa*, 167: 35–60.
- Tunesi, L., Mo, G., Salvati, E., Molinari, A., Rais, C., Limam, A., Benhamza, A., Benhissoune, S., Nachite, D., Zeichen, M., Agnesi, S., Di Nora, T., Piccione, M. E., Bazairi, H. & Sadki, I. (2003). Rapport global des travaux de prospection de la partie marine du Parc National d'Al-Hoceima. Projet Régional pour le Développement d'Aires Protégées Marineset Côtières dans la Région Méditerranéenne (Projet MedMPA). CAR/ASPPAM–PNUE. pp. 111.
- Wynne, M.J. (2011). A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: third revision. *Nova Hedwigia Beih.*, 140. pp. 166.



Chapitre 5

**REDOX-ACTIVE PHENOLIC
COMPOUNDS MEDIATE THE
ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC
EFFECTS OF
CARPODESMIA TAMARISCIFOLIA
(= *CYSTOSEIRA TAMARISCIFOLIA*)**



Redox-active phenolic compounds mediate the antioxidant and cytotoxic effects of *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*)

Hanaa Moussa^{a,d}, Elías Quezada^b, Dolores Viña^c, Hassane Riadi^d, José Gil-Longo^{a*}

Affiliation

^a Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

^b Departamento de Química Orgánica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

^c Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS) Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

^d Applied Phycology-Mycology Group (PMA), Applied Botany Laboratory, Department of Biology, Faculty of Sciences, Abdelmalek Essaâdi University, 93030 Tétouan, Morocco

Corresponding author.

Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Tel.:+351 289 800051. Fax: +351 289800051.

E-mail address: jose.gil.longo@usc.es

Modified from submitted article: **Moussa, H.**, Quezada, E., Viña, D., Riadi, H., Gil-Longo. (2019). Redox-active phenolic compounds mediate the antioxidant and cytotoxic effects of *Carpodesmia tamariscifolia* (= *Cystoseira tamariscifolia*), *European Journal of Integrative Medicine* (Submitte).

5.1. Résumé

Carpodesmia tamariscifolia (= *Cystoseira tamariscifolia*) est une algue brune riche en polyphénols ayant des effets cytotoxiques et antioxydants importants. Cependant, la relation entre sa composition chimique et ses effets est inconnue. L'objectif de cette étude est d'identifier les composés potentiels et les mécanismes responsables de ses principaux effets.

La poudre d'algue sèche a été extraite consécutivement avec l'hexane, le dichlorométhane et le méthanol, puis les extraits ont été fractionnés à l'aide de colonnes de Sephadex LH-20 et de gel de silice pour le cas échéant. Les fractions ont été soumises à une chromatographie en couche mince et à une analyse par spectrométrie de masse par chromatographie en phase liquide, puis évaluées pour déterminer leur contenu phénolique total (dosage de Folin-Ciocalteu), l'activité antioxydante (dosage de DPPH), le potentiel cytotoxique a été testé par le dosage du MTT sur la lignée cellulaire de SH-SY5Y, et la capacité à générer du H₂O₂ par le test Amplex Red.

Les analyses chromatographiques et phénoliques des 12 fractions indiquent que de nombreuses phénols à activité redox sont présentes en abondance et que les dérivés apolaires contiennent une grande quantité de dérivés prénylés d'hydroquinone. Dans les fractions de l'hexane (CtH) et de dichlorométhane (CtD), l'activité antioxydante et cytotoxique est étroitement liée à leur contenu phénolique, dans les fractions de méthanol (CtM), l'activité antioxydante est positivement liée au contenu phénolique, tandis que la cytotoxicité révèle une liaison négative avec celui-ci. Pour les mêmes tests, l'hydroquinone se comporte à la fois comme agent cytotoxique et antioxydant puissant. Le dosage de H₂O₂ montre que les fractions de *C. tamariscifolia* et l'hydroquinone peuvent s'auto-oxyder et générer du H₂O₂.

Les phénols rédox-actifs produisent les effets pharmacologiques décrits pour *C. tamariscifolia*. Le cycle hydroquinone de dérivés prénylés d'hydroquinone est responsable à la fois des effets cytotoxiques (via un mécanisme prooxydant secondaire à son autoxydation) et des effets antioxydants des fractions apolaires.

Mot clés:

Carpodesmia tamariscifolia, *Cystoseira tamariscifolia*, antioxydant, cytotoxique, Composés phénoliques, redox-active.

5.2. Abstract

Carpodesmia tamariscifolia (= *Cystoseira tamariscifolia*) is a brown alga rich in (poly)phenols with important cytotoxic and antioxidant effects; however the relationship between its chemical composition and its effects is unknown. The aim of this study is to identify the potential compounds and mechanisms responsible for its main effects.

The alga was extracted consecutively with hexane, dichloromethane and methanol and further fractionated using Sephadex LH-20 and silica gel columns when appropriate. The fractions were subjected to thin-layer chromatography and liquid chromatography-mass spectrometry analysis and evaluated for their total phenolic content (Folin-Ciocalteu assay), radical scavenging activity (DPPH assay), cytotoxic activity (MTT assay on the SH-SY5Y cell line), and ability to generate H₂O₂ (Amplex Red assay).

Chromatographic and phenolic analysis of the fractions indicate that abundant redox-active phenols are present in all the fractions and that plenty of prenylated hydroquinone derivatives are present in the apolar ones. In the hexane and dichloromethane fractions, the antioxidant and cytotoxic activity is closely related to their phenolic content; in the methanol fractions, the antioxidant activity is positively related to the phenolic content while the cytotoxicity is negatively related to it. For the same tests, hydroquinone behaves as both strong cytotoxic and antioxidant agent. H₂O₂ assay shows that *C. tamariscifolia* fractions and hydroquinone can autoxidize and generate H₂O₂.

Our results suggest that Redox-active phenols produce the pharmacological effects described for *C. tamariscifolia*. The hydroquinone moiety of prenylated hydroquinone derivatives is the responsible for both cytotoxic (through a prooxidant mechanism secondary to its autoxidation) and antioxidant effects of the apolar fractions.

Keywords:

Carpodesmia tamariscifolia, *Cystoseira tamariscifolia*, antioxidant, cytotoxic, phenolic compounds, redox-active

1.2. Introduction

Brown marine macroalgae possess active ingredients that can improve human health (El Gamal 2010; Gupta & Abu-Ghannam 2011). Among them, *Cystoseira* genus has largely been studied chemically and biologically (Bruno de Sousa *et al.*, 2017). *Cystoseira tamariscifolia* is considered one of the most active and interesting species of *Cystoseira* genus and several studies have investigated its chemical composition and pharmacological activity.

It has been reported that *C. tamariscifolia* contains a wide variety of secondary metabolites: i) prenylated hydroquinone derivatives, namely demethoxy cystoketal chromane (Vizetto Duarte *et al.*, 2016a), cystophloroketal A, B and E (El Hattab *et al.*, 2015), methoxybifurcarenone (Bennamaraa *et al.*, 1999), cystoseirol A, B, C, D and E (Francisco *et al.*, 1986), tamariscolone, 6-cis-amentadione-1'-methyl ether, amentadione-1'-methyl ether, balearone, strictaketol, neobalearone, epineobalearone, 2-(2'E,6'E,10'E)-5'-Hydroxy-3',7',11',15'-tetramethylhexadeca-2',6',10',14'-tetraenyl-6-methylhydroquinol (Amico *et al.*, 1989); ii) terpenoids, namely isololiolide (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016b); iii) phloroglucinol (Andrade *et al.*, 2013; Jégou *et al.*, 2015), phloroglucinol dimers (bifuhalol and diphloroethol; Glombitza *et al.*, 1975) and oligomers (fucophlorethol, 7-phloroeckol, fucodiphloroethol G, fucotriphloroethol, tetrafucol; Ferreres *et al.*, 2012). It is noticeable that almost all the identified secondary metabolites are (poly)phenols, principally prenylated hydroquinone and phloroglucinol derivatives.

In relation to the pharmacological activity of *C. tamariscifolia*, it has been reported that its organic extracts, and mainly its most polar fractions, have a high antioxidant activity that was generally correlated with their total phenolic content (Amico *et al.*, 1989; Zubia *et al.*, 2009; Abdala-Diaz *et al.*, 2014, Custódio *et al.*, 2016; Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a; Pinteus *et al.*, 2017) or phlorotannins content (Ferreres *et al.*, 2012; Lopes *et al.*, 2012). Related to the antioxidant effect, it has also been reported that both the methanol extract of *C. tamariscifolia* and phloroglucinol have cytoprotective effects on SH-SY5Y and MCF-7 cells stressed with H₂O₂ (Custódio *et al.*, 2016; Pinteus *et al.*, 2017).

Moreover several reports have shown that *C. tamariscifolia* organic extracts exert a strong cytotoxic activity against several tumoural cells lines, namely Daudi, Jurkat and K562, HepG2 and L6 (Zubia *et al.*, 2009; Spavieri *et al.*, 2010; Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a) and *Artemia salina* (Abourriche *et al.*, 1999).. Isololiolide (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016b) and/or demethoxy cystoketal chromane could be involved in this effect (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a).

It has also been reported that *C. tamariscifolia* extracts have antimicrobial, antiprotozoal and antifungal effects (Abourriche *et al.*, 1999; Spavieri *et al.*, 2010); some of these effects could be related to methoxybifurcarenone (Bennamaraa *et al.*, 1999) or phlorotannins (Lopes *et al.*, 2012). In addition, other authors have described α -glucosidase, acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, tyrosinase and hyaluronidase inhibitory activities of *C. tamariscifolia* extracts (Ferrerres *et al.*, 2012; Andrade *et al.*, 2013; Custódio *et al.*, 2016).

In spite of all the studies published, it has not been established a mechanistic relationship between the chemical composition of *C. tamariscifolia* and its reported pharmacological effects. In particular, it is not understood how different extracts of *C. tamariscifolia* have similar effects and how a specific extract can have several different pharmacological effects apparently not related to each other. Therefore, the aim of this study is to obtain a high number of fractions of the alga and analyze if their phenolic content is related to both their antioxidant and cytotoxic effects and if the redox-activity of phenols present in the fractions could explain the effects found.

1.3. Materials and methods

5.4.1. Drugs, chemicals and solvents

Cisplatin, dimethyl sulphoxide (DMSO), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Dragendorff reagent, Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM), fetal bovine serum (FBS), Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, Ham's nutrient mixture F12, Hanks buffer, hydroquinone, L-glutamine, ninhydrin-collidine, non-essential amino acids (NEAA), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), penicillin, phloroglucinol, phosphate buffered saline (PBS), phosphomolybdic acid, Sephadex LH-20, sodium carbonate, streptomycin, sulfuric acid and trypsin-EDTA were purchased from Sigma-Aldrich (Madrid, Spain). Amberlite XAD-2 was obtained from Supelco (Madrid, Spain). Silica gel (35–70 μm mesh) was acquired from Carlo Erba (Barcelona, Spain). The organic solvents (hexane, dichloromethane, methanol, ethyl acetate and ethanol) were from obtained ThermoFisher (Madrid, Spain).

5.4.2. Algae harvesting

Carpodesmia tamariscifolia (Hudson) Papenfuss was harvested in the Al-Hoceima National Park (Mediterranean Moroccan coast) in August 2015. A voucher specimen (HTET- 831) was identified and deposited in the Applied Algology–Mycology Laboratory, Department of

Biology, Faculty of Sciences at Abdelmalek Essaadi University, Tetouan, Morocco. The cleaned seaweeds were shade dried for 4 days, cut into small pieces, powdered in a mixer grinder and stored until use.

5.4.3. Extraction and preparation of the fractions

Fine dry powder of the alga (50 g) was extracted by maceration with three different organic solvents in order of increasing polarity (450 mL of solvent for each extraction process): hexane, dichloromethane and methanol. The extraction procedure was repeated 5 times at room temperature for 24 h, and the supernatants were filtered through Whatmann filter paper. The methanolic extract was also desalted using an Amberlite XAD-2 column. Then the filtrates were evaporated to dryness under reduced pressure using a rotary evaporator, to obtain the hexane (CtH), dichloromethane (CtD) and methanol (CtM) extracts. Regarding the complexity of CtD and CtM extracts (analyzed by TLC), they were fractionated using a Sephadex LH-20 column (7 cm diameter, 50 cm length).

For elution of CtD extract, different mixtures of hexane:chloroform:methanol were added sequentially were used (7:3:0.5; 5.5:4:0.5; 4:4:2; 2:4:4). The collected fractions were analyzed by TLC and similar fractions were combined to obtain three fractions (CtD1, CtD2 and CtD3). The CtD3 was chromatographed again over a silica gel column (2 cm diameter, 35 cm length) using dichloromethane:methanol as eluent with increasing polarity (99:1; 98:2; 97:3; 96:4; 95:5; 94:6; 93:7; 92:8; 91:9 and 90:10). After analysis by TLC, similar collected fractions were combined and five subfractions were obtained: CtD3.1; CtD3.2; CtD3.3; CtD3.4 and CtD3.5.

For elution of CtM extract, the ethanol was used, followed by methanol and finally Milli-Q water as mobile phase. After analyzing by TLC, the similar fractions were regrouped into four fractions (CtM1; CtM2; CtM3; CtM4). In all the cases, solvent was removed from fractions using a rotary evaporator at 40 °C. Finally, the 12 fractions obtained from *C. tamariscifolia* were dried in a desiccator and stored at 4° C for later use. As necessary, aliquots of the dry fractions were dissolved and stored at -20 °C until use.

5.4.4. Thin layer chromatography (TLC) analysis

TLC analysis was performed on pre-coated aluminium silica gel plates (60 F254 TLC plates; Merck, Madrid, Spain). The solvent systems used were dichloromethane:methanol and hexane:ethyl acetate in different proportions. After their development, plates were visualized under UV light at 254 and 366 nm and by spraying them with several chemical reagents: sulfuric

acid, phosphomolybdic acid, Folin-Ciocalteu reagent, DPPH, Dragendorff reagent and ninhydrin-collidine.

5.4.5. Total phenolic content (TPC)

The TPC in the different fractions of *C. tamariscifolia* was estimated by a colorimetric reaction using the Folin-Ciocalteu assay. Briefly, a suitable aliquot of each fraction was diluted with distilled water until 0.3 mL, then mixed with 0.2 mL Folin-Ciocalteu's phenol reagent (2N), and three minutes later treated with 2.5 mL of sodium carbonate (0.35 N). After incubation in the dark at room temperature for 30 min, absorbance was measured at 760 nm using an Ultrospec 4000 spectrophotometer (Pharmacia Biotech, USA). The TPC of the fractions was expressed in g of gallic acid equivalents (g GAE; calculated using a calibration curve prepared with gallic acid standard solutions processed in the same way as samples) per 100 g of dry fraction, i.e., % GAE.

5.4.6. Antioxidant activity

The antioxidant activity was determined using the DPPH scavenging assay. 20 μ L of sample solutions properly diluted were added to 1980 μ L of a DPPH solution (60 μ M in methanol) to achieve different final concentrations (3, 10, 30, 100 μ g/mL). After agitation of the test tubes using a vortex, they were incubated in the dark at room temperature for 30 min, and the absorbance of the resulting solution was measured at 517 nm using an Ultrospec 4000 spectrophotometer (Pharmacia Biotech, USA). Percentage of radical scavenging activity was calculated by the following formula:

$$\% \text{ Scavenging activity} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] * 100$$

Where, A_{control} is the absorbance of the DPPH solution plus the sample solvent, and A_{sample} is the absorbance of DPPH solution plus the sample solution. Phloroglucinol and hydroquinone were used as positive controls.

5.4.7. Cytotoxic activity

Cell cytotoxicity of the different extracts was evaluated using the human neuroblastoma SH-SY5Y cell line (ATCC[®] CRL-2266TM). SH-SY5Y cells were cultured in Eagle's Minimum Essential Medium/Ham's Nutrient Mixture F12 (EMEM/F12, 1:1) containing 15% fetal bovine serum (FBS, v/v), L-glutamine (2 mM), 1% penicillin/ streptomycin and 1% non-essential aminoacid solution (NEAA). The cell line was grown on 75 cm² flask in an incubator (Form Direct Heat CO₂, Thermo Electron Corporation, Madrid, Spain) under saturated humidity air

containing 5% CO₂ at 37 °C. The cells flasks were subcultured three times a week, until the cells achieved 70-80% confluence. For that, culture medium was removed and the cells were washed with PBS, treated with trypsin-EDTA (5 min, 37 °C), diluted 1:1 with medium, centrifuged (1000 g) to get the cell pellet and suspended in the corresponding medium for splitting each individual flask at a ratio of 1:5.

Cell viability was determined by the 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium (MTT) colorimetric assay. For that, SH-SY5Y cells were seeded at a density of 1×10^4 cells/well on 96-well plates (Microtest™ 96 well assay plate, BD Biosciences, USA) in a volume of 100 µL of culture medium, and incubated for 24 h at 37 °C in 5% CO₂. After 24 h, the cells were treated with 50 µg/mL of the algae extracts solved with different concentrations of DMSO (1% for CtH and CtD1, 0.5% for CtD2 and CtD3.1-CtD3.5 and 0.1% for CtM1-4 extracts) and incubated for 24 h. Cells were also treated for 24 h with 6 µg/mL of cisplatin or 11 µg/mL of hydroquinone (positive controls) or the corresponding concentration of DMSO used in the test wells (negative controls). After the incubation period, 10 µL of MTT reagent prepared in Hanks buffer (5 mg/mL) was added to each well. Following incubation for two hours in the conditions above described, the medium was removed and the formazan crystals were dissolved in 100 µL of DMSO/well. Cell viability was established by measuring absorbance at 544 nm using a microplate reader (FLUOstar Optima, BMG LABTECH, Germany). The results were expressed as percentage of cell death relative to the control (cells treated with the vehicle, DMSO).

5.4.8. H₂O₂ measurements

H₂O₂ production was measured using the Amplex Red Hydrogen Peroxide Assay Kit (Invitrogen; Paisley, UK). Autoxidation solutions of representative fractions of *C. tamariscifolia* and positive controls were freshly prepared adding the appropriate volume of each stock solution to a Krebs bicarbonate solution (composition mM: NaCl, 119; CaCl₂·2H₂O, 1.5; NaHCO₃, 25; KCl, 4.7; MgSO₄·7H₂O, 1.2; KH₂PO₄, 1.2; glucose, 11; pH 7.4; 37°C; oxygenated with carbogen). Then, 50 µL of the autoxidation solutions incubated for 1 h (diluted if necessary) or the H₂O₂ standard curve samples were placed into individual wells of a microplate. Later, 50 µl of working solution (0.1 mM Amplex Red reagent + 0.1 U/mL horseradish peroxidase) were added to each microplate well and incubated for 30 min at room temperature. The fluorescence of Amplex Red-generated resorufin as indicator of H₂O₂ presence was then measured using a microplate reader (FLUOstar Optima, BMG LABTECH, Germany) using excitation at 545 nm and fluorescence detection at 590 nm.

5.4.9. Liquid chromatography-mass spectrometry analysis

Chemical composition of the fractions was analysed using a HPLC system (Agilent 1100 series; Agilent Technologies Inc., USA) coupled with an ESI/TOF mass spectrometer (micrOTOF; Bruker, Germany). The chromatographic separation of compounds was conducted with a column Zorbax Eclipse XDB (4.6 x 150 mm, 5 μ m; Agilent Technologies Inc.), at 25 °C with a flow rate of 1.0 mL/min. The mobile phase (used with a gradient) consisted of distilled water containing 0.1% formic acid (A) and methanol containing 0.1% formic acid (B). The gradient programme was as follows: 0-60 min, 98-2 % A; 60-61 min, 2-98% A. The HPLC-MS analysis was carried out by the mass spectrometry service of the University of Santiago de Compostela.

5.4.10. Data and statistical analysis

The results of all the experiments were expressed as mean \pm standard error of the mean (s.e.m); n indicates the number of observations. Graphical representation and statistical analysis was carried out with the GraphPad Prism program (V 6.01, USA).

Student`s two-tailed t-test for unpaired data was used to compare the differences between two data groups. An analysis of variance was used for comparisons among three or more experimental data groups; if significant differences were found the Dunnett`s *post hoc* test was used to make specific comparisons. The Pearson correlation coefficient (r) was calculated to evaluate the strength of the linear relationship between two variables. Results were considered to be significant at $P < 0.05$.

1.4. Results

1.4.1. Extraction and fractionation

The extraction yields from *C. tamariscifolia* showed a great variability depending on the solvent polarity (**Table 5.1**). The highest extraction yield was obtained using dichloromethane, followed by hexane and methanol. Dichloromethane and methanol extracts were further fractionated, and as a result, we obtained 11 fractions or sub-fractions (**Table 5.1**).

Table 5.1. Percentage of crude extracts yield and fractions of *C. tamariscifolia* with respect to the initial dry alga weight (50 g). **CtH**, hexane extract; **CtDn**, dichloromethane fractions; **CtMn**, methanol fractions.

Extracts/Fractions	Extract/fraction weight (g)	% Yield
CtH	0.188	0.376
CtD	0.590	1.18
CtD1	0.234	0.468
CtD2	0.151	0.302
CtD3	0.189	0.378
CtD3.1	0.16	0.032
CtD3.2	0.27	0.054
CtD3.3	0.34	0.068
CtD3.4	0.22	0.044
CtD3.5	0.72	0.144
CtM	0.162	0.324
CtM1	0.27	0.054
CtM2	0.20	0.040
CtM3	0.39	0.078
CtM4	0.26	0.052

1.4.2. Thin layer chromatography analysis

TLC profiles of all the extracts and fractions of *C. tamariscifolia* showed quite similar spots using sulfuric acid, phosphomolybdic acid, Folin-Ciocalteu reagent and DPPH as revealing agents. Moreover it is remarkable that a number of spots were found by revealing the TLC plates with both Folin-Ciocalteu reagent and DPPH in all the fractions. Conversely, ninhydrin-collidine and Dragendorff tests were negative for all the fractions.

1.4.3. Total phenolic content (TPC)

The TPC of *C. tamariscifolia* fractions was determined using the Folin-Ciocalteu method. The TPC changed significantly among the different fractions (**Figure 5.1**). The highest TPC was observed for the CtM2 fraction ($10.9 \pm 0.1\%$ GAE) and the lowest for the CtD3.2 one ($1.1 \pm 0.03\%$ GAE). The TPC decreased in the following sequence: CtM2 > CtM3 > CtD3.4 > CtD2 > CtD3.3 > CtD3.5 > CtM4 > CtH > CtD3.1 > CtM1 > CtD1 > CtD3.2.

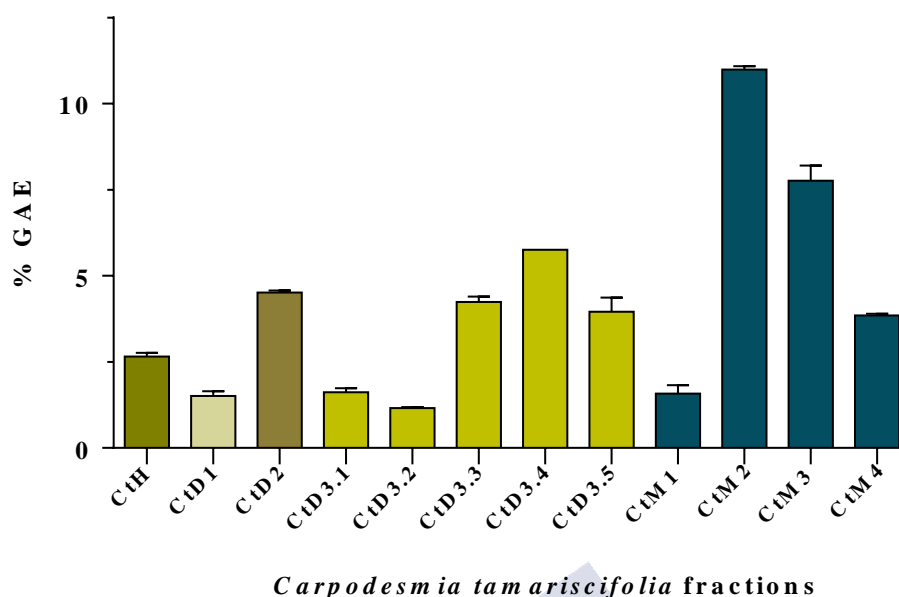


Figure 5.1. Total phenolic content expressed in % GAE (g of gallic acid equivalents per 100 g of dry sample) in the different fractions of *C. tamariscifolia*. Each bar represents the mean \pm s.e.m (indicated by vertical lines) of at least 3 experiments.

1.4.4. DPPH radical scavenging activity

All the fractions of *C. tamariscifolia* (3, 10, 30 and 100 $\mu\text{g/mL}$), phloroglucinol (3, 10, 30 and 100 $\mu\text{g/mL}$) and hydroquinone (1.1, 5.5, 11 and 55 $\mu\text{g/mL}$) showed a significant and dose-dependent DPPH radical scavenging activity (the key results are presented in **figure 5.2**). The highest DPPH radical scavenging activity (at 100 $\mu\text{g/mL}$) was obtained for the CtD3.5 sub-fraction ($91.5 \pm 8.4\%$) and the lowest for the CtD1 fraction ($16.4 \pm 0.9\%$). The DPPH radical scavenging activity decreased in the following order: hydroquinone $>$ CtD3.5 $>$ CtD2 $>$ CtD3.3 $>$ CtD3.4 $>$ CtM3 $>$ CtM2 $>$ CtM4 $>$ CtH $>$ CtM1 $>$ phloroglucinol $>$ CtD3.1 $>$ CtD3.2 $>$ CtD1.

A positive and significant ($P < 0.05$) correlation between antioxidant capacity (no matter the concentration of extract used) and phenolic levels was observed. The value of r was 0.607 by measuring the antioxidant capacity at 100 $\mu\text{g/mL}$. This positive correlation was especially intense ($r = 0.957$) when only the most apolar fractions were considered, i.e., CtH and the different fractions of CtD.

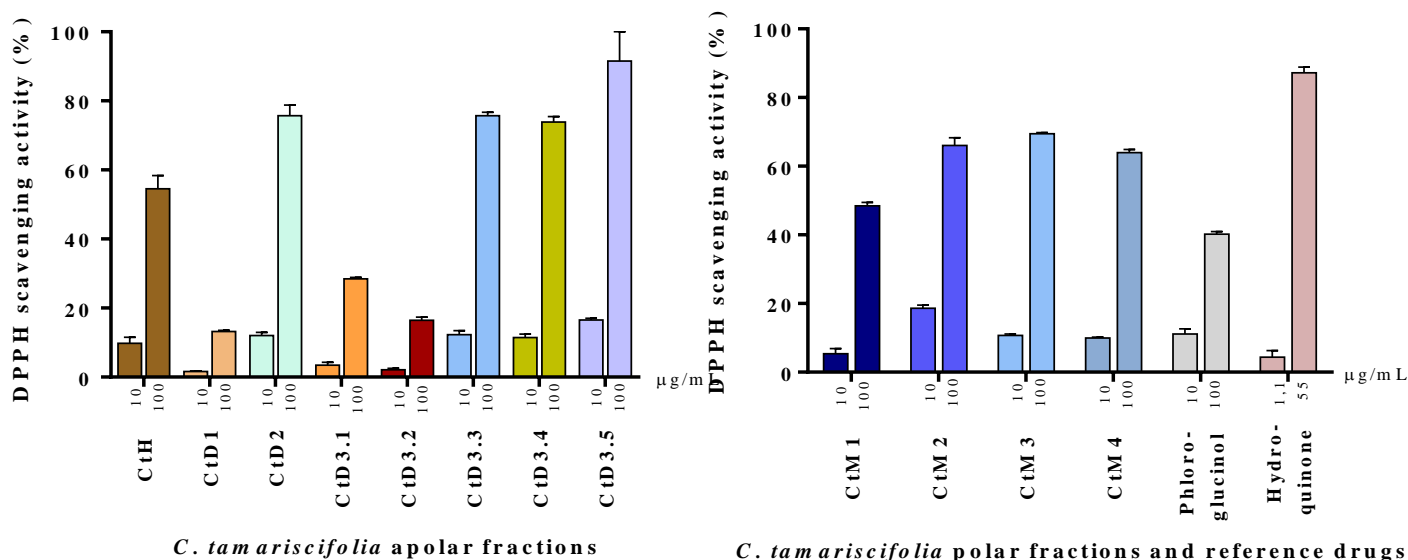


Figure 5.2. DPPH radical scavenging effect of (a) *C. tamariscifolia* apolar fractions (10 and 100 µg/mL) and (b) *C. tamariscifolia* polar fractions (10 and 100 µg/mL), phloroglucinol (10 and 100 µg/mL) and hydroquinone (1.1 and 55 µg/mL). Each bar represents the mean ± s.e.m (indicated by vertical lines) of at least two independent experiments.

1.4.5. Cytotoxic activity

The cytotoxic effects of *C. tamariscifolia* fractions (10 and 50 µg/mL), cisplatin (6 µg/mL) and hydroquinone (3.3, 5.5 and 11 µg/mL) were evaluated on SH-SY5Y cells using the MTT colorimetric assay. No cytotoxic effects were observed for *C. tamariscifolia* fractions at 10 µg/mL; however, at 50 µg/mL most fractions significantly ($P < 0.05$) increased the SH-SY5Y mortality (**Figure 5.3**). CtH and most of CtD fractions (no CtD1 and CtD3.2) produced higher mortality than the methanolic fractions, 6 µg/mL cisplatin or 5.5 µg/mL hydroquinone. The cytotoxic activity of the fractions decreased in the following order: CtD3.3 ≥ CtD2 ≥ CtD3.1 ≥ CtD3.5 ≥ CtD3.4 ≥ CtH > CtD1 > CtM4 > CtM1 > CtM3 > CtD3.2 > CtM2.

No noticeable correlation between cytotoxic effects of *C. tamariscifolia* fractions and their phenolic content was observed considering all the fractions. However, a positive and significant ($P < 0.05$) correlation was observed considering only the most apolar fractions ($r = 0.75$). Conversely, considering only the methanol fractions, a negative non-significant correlation was observed ($r = -0.74$). Moreover, a positive and significant ($P < 0.05$) correlation ($r = 0.83$) was observed between the cytotoxic effects of 8 most apolar fractions of *C. tamariscifolia* (i.e., CtH and the different fractions of CtD) and their antioxidant capacity; this correlation was not observed for the methanol fractions.

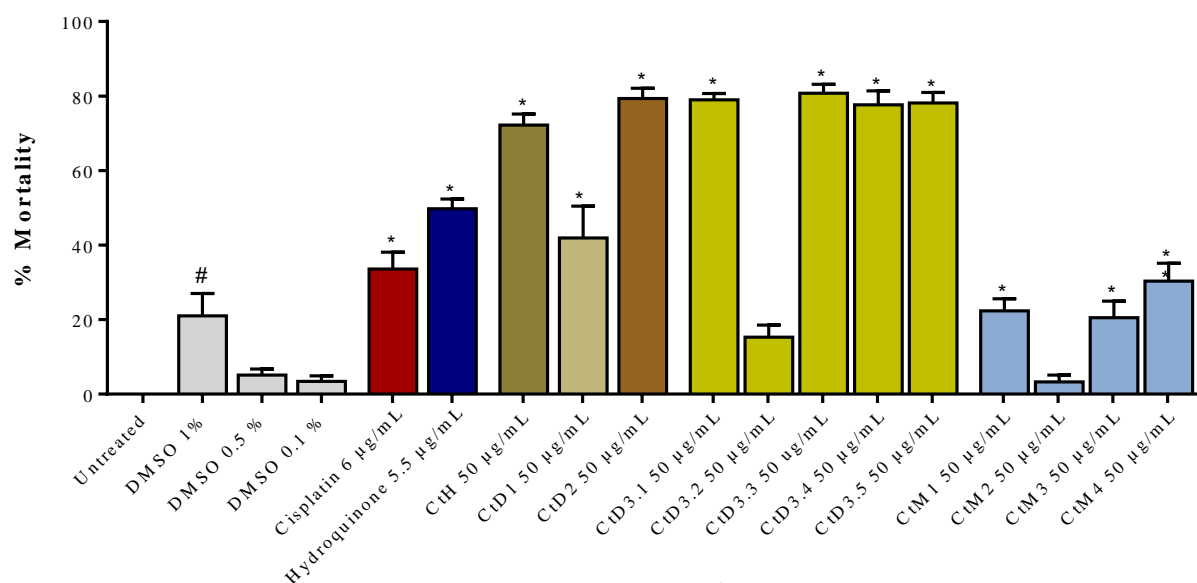
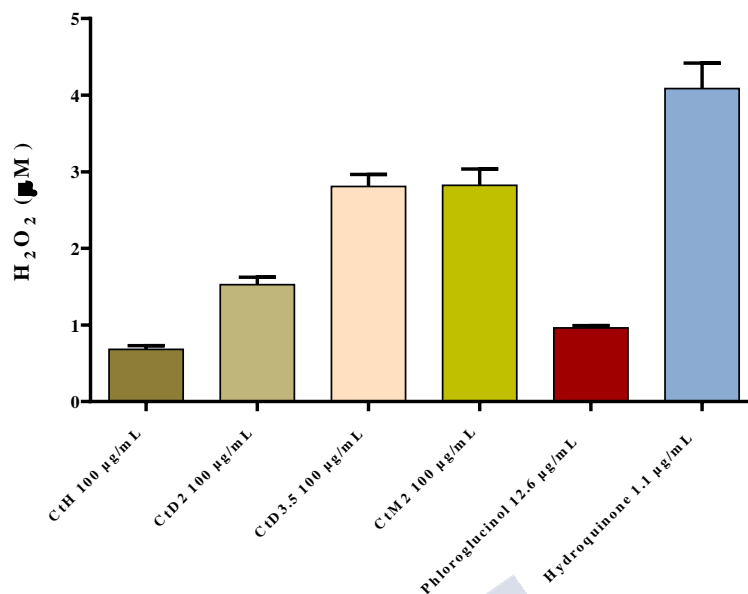


Figure 5.3. Effect of different % vehicle (DMSO), cisplatin (6 µg/mL), hydroquinone (5.5 µg/mL) or *C. tamariscifolia* fractions (50 µg/mL) on cell death. Cell mortality was determined by the MTT assay and the data were normalized as % of untreated cells. Each bar represents the mean \pm s.e.m (indicated by vertical lines) of at least five independent experiments. # $P < 0.05$ compared to the untreated group, * $P < 0.05$ compared to the corresponding vehicle treated (DMSO) control group.

1.4.6. H₂O₂ production in representative autoxidized solutions of *C. tamariscifolia* fractions

Using representative fractions of *C. tamariscifolia* (CtH, CtD2, CtD3.5 and CtM2), the Amplex Red H₂O₂ assay showed that H₂O₂ is produced during the autoxidation of alga fractions (100 µg/mL in aqueous solutions). The H₂O₂ concentration reached after 1 h of autoxidation ranged from 0.68 ± 0.046 µM for the CtH fraction to 2.8 ± 0.21 µM for the CtM2 one (**Figure 5.4**). In the same conditions, the H₂O₂ concentrations generated by phloroglucinol (12.6 µg/mL) and hydroquinone (0.55 µg/mL) were 0.96 ± 0.028 µM and 4.09 ± 0.33 µM, respectively. A positive correlation between the generation of H₂O₂ by the extracts and their TPC was observed ($r = 0.63$; $P > 0.05$).



Representative *C. tamariscifolia* fractions and reference drugs

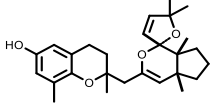
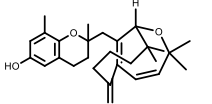
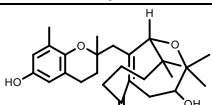
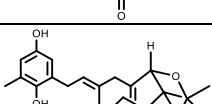
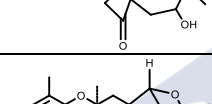
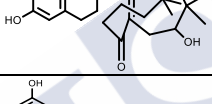
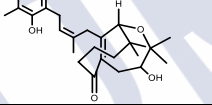
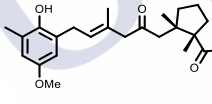
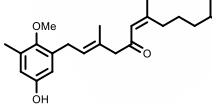
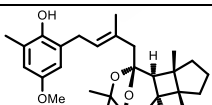
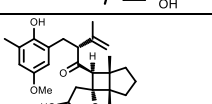
Figure 5.4. H_2O_2 concentration after 1h of autoxidation in different representative autoxidized aqueous solution fractions of *C. tamariscifolia* (CtH, CtD2, CtD3.5 and CtM2; 100 µg/mL), phloroglucinol (12.6 µg/mL) and hydroquinone (1.1 µg/mL). Each bar represents the mean \pm s.e.m (indicated by vertical lines) of at least three independent experiments.

1.4.7. Liquid chromatography-mass spectrometry analysis

Comparing the accurate mass of the different peaks of fraction chromatograms obtained experimentally by HPLC-ESI/TOF/MS for the five representative fractions analysed (CtH, CtD2, CtD3.5, CtM1 and CtM2) with those of phenols of *C. tamariscifolia* previously reported, several phenols and/or some isomers of them were tentatively identified (**Table 5.2**). It is relevant to point out that all the tentatively identified compounds in our representative fractions were prenylated hydroquinone derivatives and that they were almost exclusively present in the CtH and CtD fractions (**See supplementary data**).

In our representative fractions no other phenols previously described in some extracts of *C. tamariscifolia* were identified (i.e., isololiolide, cystophloroketals A, B and E, tamariscolone, balearone, 2-(2'E,6'E,10'E)5'-Hydroxy-3',7',11',15'-tetramethylhexadeca-2',6',10',14'tetraenyl-6-methylhydroquinol, phloroglucinol, phloroglucinol dimers (bifuhalol and diphloroethol) and phloroglucinol oligomers (fucophlorethol, 7-phloroeckol, fucodiphloroethol isomers, fucotriphloroethol and tetrafucol). Also, no other common phlorotannins found in algae literature were identified (i.e., difucol, eckol, dioxinodehydroeckol, phlorofucofuroeckol isomers, dieckol and bieckol isomers).

Table 5. 2. Phenols previously reported to be present in *C. tamariscifolia* that were tentatively identified (themselves and/or some isomers of them) in the five representative fractions of the alga (CtH, CtD2, CtD3.5, CtM1 and CtM2) analysed.

Phenol	Structure	Molecular formula/mass	Tentative assignment ¹	Reference ²
Demethoxy cystoketal chromane		C ₂₇ H ₃₆ O ₄ 424.2614	CtH CtD2 CtD3.5	Vizetto-Duarte <i>et al.</i> , 2016a
Cystoseirol A				Francisco <i>et al.</i> , 1986
Cystoseirol B		C ₂₇ H ₃₈ O ₅ 442.2719	CtH CtD2 CtD3.5 CtM1 (traces)	Francisco <i>et al.</i> , 1986
Cystoseirol D				
Cystoseirol C				
Cystoseirol E				
Methoxybifurcarenone				
6-cis-Amentadione 1'-methyl ether		Amico <i>et al.</i> , 1989		
Strictaketol				
Neobalearone				
Epineobalearone				

1. Representative fractions in which the phenol itself and/or some isomers of it were identified.
2. Reference that described for the first time the presence of the phenol in *C. tamariscifolia*

1.5. Discussion

In the last years, many studies were published on the chemical composition and the pharmacological activity of several *C. tamariscifolia* extracts. Most of the identified compounds were (poly)phenols, mainly prenylated hydroquinone derivatives and phloroglucinol derivatives. The most frequently reported pharmacological activities of *C. tamariscifolia* extracts were antioxidant, cytotoxic and antimicrobial. No mechanistic relationship between the chemical composition and the described effect was so far established. To the best of our knowledge, this is the first report studying the phenolic content and the most frequently reported effects of many fractions of *C. tamariscifolia* (from the most apolar to the methanol ones). In addition, it provides a mechanistic explanation for the effects found in our study and the ones reported by others. In our study, twelve organic fractions of *C. tamariscifolia* of different polarity were obtained in order to have an overview of the whole alga and deep study of the relationship between the main effects of the alga and its chemical composition.

Our TLC study of the *C. tamariscifolia* fractions shows a good coincidence between the spots revealed by sulfuric acid that detects most organic compounds, phosphomolybdic acid that detects reducing substances, Folin-Ciocalteu reagent that detects redox active phenols, and DPPH that detects both lipophilic and hydrophilic antioxidants. These results suggest that redox active phenols with antioxidant activity are the main compounds in the extracts. It is worth noting that we found, in all the extracts, several spots revealed with both Folin-Ciocalteu reagent and DPPH, suggesting that in *C. tamariscifolia* there is a great variety of redox active phenols presenting antioxidant activity, both very apolar and quite polar. However, in the *C. tamariscifolia* fractions we do not detect peptides (ninhydrin-collidine test negative) or nitrogen compounds (Dragendorff test negative). The determination of TPC in the *C. tamariscifolia* fractions, using the Folin-Ciocalteu method, confirms the presence of redox active phenols in all the fractions and suggests that their structures varied as some ones are apolar and others are polar. The phenolic content is quite variable in the different fractions, but in general sufficiently to produce biological effects.

In accordance with other authors ([Zubia et al., 2009](#); [Andrade et al., 2010](#); [Abdala-Diaz et al., 2014](#); [Custódio et al., 2016](#); [Vizetto-Duarte et al., 2016a](#); [Pinteus et al., 2017](#)), our study using the DPPH method shows that *C. tamariscifolia* has an important antioxidant capacity (in general, higher than in many other macroalgae, similar to that produced by phloroglucinol and lower than that generated by hydroquinone). It also indicates that the antioxidant capacity is present in all the fractions of the alga and therefore it must be related to different compounds

with different polarities. In agreement with previous studies (Zubia *et al.*, 2009; Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a; Pinteus *et al.*, 2017), our results show that the antioxidant activity of *C. tamariscifolia* fractions is closely related to their phenolic content, suggesting that the main antioxidant compounds present in the extracts are phenolic. Our study brings reliability to the previously available information as because we work with a great number of fractions (twelve in total). Furthermore, we observe that the correlation between the phenolic content and the antioxidant activity is more pronounced when only the most apolar fractions are considered, suggesting that in the alga there are different kind of polyphenols with different antioxidant activities.

Using the MTT colorimetric assay, we show that the majority of *C. tamariscifolia* apolar extracts (i.e., CtH and the different fractions of CtD), as well as cisplatin and hydroquinone (used as reference compounds) exhibit a strong cytotoxic activity against SH-SY5Y cells. However, the CTM fractions exhibit a low cytotoxic effect or no effect at all. Other authors working with crude extracts (Zubia *et al.*, 2009; Spavieri *et al.*, 2010; Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a) also described cytotoxic effects of *C. tamariscifolia* against other tumour cell lines (Daudi, Jurkat, K562, L6, HepG2); particularly, Vizetto-Duarte (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a) also observed that the highest toxicity appeared with the most apolar fractions. Because it was shown that isololiolide and demethoxy cystoketal chromane are present in the hexane extract of *C. tamariscifolia* and have important cytotoxic effects (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016 a, b), both could participate in the cytotoxic effects of our apolar fractions.

Our study with many *C. tamariscifolia* fractions allowed, for the first time, to study the relationship between the cytotoxicity of the different fractions and their TPC. Our results show that the cytotoxic effect of the apolar fractions is closely related to their phenolic content, suggesting that the compounds responsible for the cytotoxic effects are phenols. Conversely, the cytotoxic effect of methanolic fractions is negatively related to their phenolic content, suggesting that in the alga there are different kind of polyphenols and that the most polar ones are less or non cytotoxic at all. Moreover, a positive and significant correlation was observed between the cytotoxic and the antioxidant effects of *C. tamariscifolia* apolar fractions. Bearing in mind that the phenolic content of these extracts is related positively with both the antioxidant and the cytotoxic effects observed, and that both effects are observed in the same range of concentrations (10-100 µg/ml), the phenolic compounds are probably the responsible for both the antioxidant and the cytotoxic effects.

Hydroquinone, its derivatives and other phenols, may undergo enzymatic oxidative activation or autoxidize, generating either a semiquinone radical (one electron oxidation) or a quinone (two-electron oxidation). The semiquinone radical can reduce oxygen to form superoxide anion radical, which may give hydrogen peroxide and hydroxyl radicals (Fenton reaction). The two-electron oxidation product (quinones) covalently bind to DNA, proteins and other biological nucleophilic substrates. Bio-reduction of terminal quinones can restore parent phenols or semiquinones and start again the generation of reactive species in a process referred to as redox cycling. As a result (See for review (Cotelle *et al.*, 1991; Bolton *et al.*, 2000; Dai & Mumper 2010; García *et al.*, 2018), some phenols can increase oxidative stress and cause cytotoxic effects. According to our measurements with the Amplex Red H₂O₂ assay, *C. tamariscifolia* fractions, phloroglucinol and hydroquinone can autoxidize and generate H₂O₂.

These results indicate that our fractions, phloroglucinol and hydroquinone are redox active and that the reactive oxygen species generated when they oxidize (e.g., quinones and H₂O₂) must be taken into account to understand their biological effects. The results also show that there is a quite good correlation between the generation of H₂O₂ by the extracts and their TPC, suggesting that the phenols present in the extracts are probably the responsible for H₂O₂ generation. Taking together our results, a pro-oxidant mechanism can be suggested as the responsible for the cytotoxicity of *C. tamariscifolia* fractions. The lipophilicity of phenols, and their ability to get into cells, seems also important because our most apolar extracts are the most cytotoxic ones, regardless of the amount of H₂O₂ generated. The pro-oxidant mechanism described can destroy cancer cells, but it can also start carcinogenesis and other pathological states (i.e., atherosclerosis, chronic inflammation, and neurodegenerative diseases; Liguori *et al.*, 2018).

In addition to producing pro-oxidant effects, hydroquinone, its derivatives and other phenols can also behave as antioxidants due to their hydroxyl groups. Two main mechanisms have been proposed to explain their scavenging abilities, a hydrogen atom and an electron transfer (Wright *et al.*, 2001). Therefore, the phenols present in our fractions that generate H₂O₂ and produce cytotoxicity, can also scavenge H₂O₂ and DPPH radical (surely the best cytoprotective phenols would have more capacity to scavenge than to generate radicals). This explanation justifies the DPPH radical scavenging activity of *C. tamariscifolia* (See above) and the protective effect of its methanol extracts on H₂O₂-induced toxicity (Custódio *et al.*, 2016; Pinteus *et al.*, 2017). As a result of this, antioxidant phenols could suppress the initiation phase of carcinogenesis and other pathologies caused by oxidative stress (Dai & Mumper 2010).

The information provided by HPLC-ESI-TOF-MS enabled us the tentative identification of several phenols in our extracts and the subsequent assessment of their relationship with the observed pro- and antioxidant effects. Comparing the molecular masses experimentally obtained with those of compounds previously reported for *C. tamariscifolia*, we confirm that significant amounts of different phenols and/or some isomers of them are present in our most apolar fractions, but not in the methanol ones: i) demethoxy cystoketal chromane (Vizetto-Duarte *et al.*, 2016a) and/or cystoseirol A (Francisco *et al.*, 1986); ii) cystoseirol B, cystoseirol C, cystoseirol D and/or cystoseirol E (Francisco *et al.*, 1986); iii) methoxybifurcarenone (Bennamaraa *et al.*, 1999), 6-cis-amentadione-1'-methyl ether and/or amentadione-1'-methyl ether (Amico *et al.*, 1989), strictaketol, neobalearone and/or epineobalearone (Amico *et al.*, 1989). Nevertheless, in our extracts we do not identify neither phloroglucinol (Andrade *et al.*, 2013; Jégou *et al.*, 2015) nor some phloroglucinol dimers and polymers previously described in some polar extracts (Glombitza *et al.*, 1975; Ferreres *et al.*, 2012).

Because there are several prenylated hydroquinone derivatives potentially redox active in our CtH and CtD fractions, they are the most promising candidates to produce their cytotoxic and antioxidant effects. In particular, the hydroquinone moiety in these molecules, but not the prenylated chain, is probably the active moiety (this justifies why different extracts presenting different compounds have the same effect). The prenylated hydroquinones identified in our extracts could have interest in the chemotherapy of cancer or in certain particular pathologic conditions, e.g., vitiligo or infections. Several drugs approved for clinical use in chemotherapy of cancer behave as pro-oxidants and in some cases their effect is thought to be associated to the hydroquinone structure, e.g., anthracyclines and mitomycin C. Hydroquinone is also a main component of topical depigmenting formulations. Although some reports show that *C. tamariscifolia* extracts have antimicrobial (Abourriche *et al.*, 1999; Bennamaraa *et al.*, 1999; Spavieri *et al.*, 2010; Lopes *et al.*, 2012) and enzymatic inhibitory (Ferreres *et al.*, 2012; Andrade *et al.*, 2013; Custódio *et al.*, 2016) activity, the interest of pro-oxidant phenols as systemic anti-infective agents and as enzymatic inhibitors is more controversial because of their inherent cytotoxic and non-specific effects.

As opposed to the most apolar fractions, in our methanolic fractions the cytotoxic effect was weaker and it seems that the antioxidant effect prevails (especially in the case of CtM2 extract). The compounds responsible for these effects are not known. Since prenylated hydroquinones, phloroglucinol and some of its dimers and polymers are not present in our methanol extracts,

other compounds as phloroglucinol derivatives not yet identified in *C. tamariscifolia* or hydroxycinnamic acids should be considered (See [Custódio et al., 2016](#)).

1.6. Conclusion

In conclusion, our results show that all the studied fractions of *C. tamariscifolia* are rich in redox active phenols that can produce both the cytotoxic and the antioxidant effects observed in our study.

The most apolar fractions have a notorious cytotoxic effect, probably related with prenylated hydroquinone derivatives and a pro-oxidant mechanism. These fractions might have interest as anticancer and topical depigmenting agents. The methanol fractions should be investigated in the future as a source of antioxidant phenols. Because the contradictory behaviour of phenols as pro- and antioxidants, it seems important to identify the chemical structures and the conditions required for each effect.

5.8. Acknowledgements

H.M. is grateful to the European Commission for her EU-METALLIC II (Erasmus Mundus) scholarship. We are also grateful to all “PMA members” for their contributions, especially during the fieldwork. This paper is dedicated to the memory of our co-author, Prof. Hassane Riadi, who recently passed away. You will be always in our mind and heart.

5.9. References

- Abdala-Diaz, R.T., Cabello-Pasini, A., Márques-Garrido, E. & López-Figueroa, F. (2014). Intra-thallus variation of phenolic compounds, antioxidant activity, and phenolsulphatase activity in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyceae) from southern Spain. *Cienc. Mar.*, 4: 1–10.
- Abourriche, A., Charrouf, M., Berrada, M., Bennamara, A., Chaib, N. & Francisco, C. (1999). Antimicrobial activities and cytotoxicity of the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*, *Fitoterapia*, 70: 611–614.
- Amico, V., Piattelli, M., Neri, P. & Ruberto, G. (1989). Metabolites of mixed biogenesis from *Cystoseira tamariscifolia* (Huds.) *Papenf. Gazz. Chim. Ital.*, 119: 467-470.
- Andrade, P.B., Barbosa, M., Pedro, R., Lopes, G., Vinholes, J., Mouga, T. & Valentão, P. (2013). Valuable compounds in macroalgae extracts. *Food Chem.*, 138: 1819–1828.
- Bennamaraa, A., Abourriche, A., Berradaa, M., Charroufa, M., Chaibb, N., Boudoumab, M. & Garneau, F.X. (1999). Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 52: 37-40.
- Bolton, J.L., Trush, M.A., Penning, T.M., Dryhurst, G. & Monks, T.J. (2000). Role of Quinones in Toxicology. *Chem. Res. Toxicol.*, 13: 135-160.
- Cotelle, N., Moreau, S., Cotelle, P., Catteau, J.P., Bernier, J.L. & Hénichart, J.P. (1991). Generation of free radicals by simple prenylated hydroquinone derivatives, natural antitumor agents from the marine urochordate *Aplidium californicum*. *Chem. Res. Toxicol.*, 4: 300-305.
- Custódio, L., Silvestre, L., Rocha, M.I., Rodrigues, M.J., Vizetto-Duarte, C., Pereira, H., Barreira, L. & Varela, J. (2016). Methanol extracts from *Cystoseira tamariscifolia* and *Cystoseira nodicaulis* are able to inhibit cholinesterases and protect a human dopaminergic cell line from hydrogen peroxide-induced cytotoxicity. *Pharm. Biol.*, 54: 1687-1696.
- Dai, J. & Mumper, R.J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15: 7313-7352.
- De Sousa, C.B., Gangadhar, K.N., Macridachis, J., Pavão, M., Morais, .TR., Campino, L., Varela, J. & Lago, J.H.G. (2017). *Cystoseira* algae (Fucaceae): update on their chemical entities and biological activities. *Tetrahedron: Asym*, 28: 1486–1505.
- El Gamal, A.A. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi Pharm J*, 18: 1–25.
- El Hattab, M., Genta-Jouve, G., Bouzidi, N., Ortalo-Magné, A., Hellio, C., Maréchal, J.P. & Culioli, G. (2015). Cystophloroketals A–E, Unusual Phloroglucinol–Meroterpenoid Hybrids from the Brown Alga *Cystoseira tamariscifolia*. *J. Nat. Prod.*, 78: 1663–1670.
- Ferreres, F., Lopes, G., Gil-Izquierdo, A., Andrade, P.B., Sousa, C., Mouga, T. & Valentão, P. (2012). Phlorotannin extracts from fucalae characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties. *Mar Drugs*, 10: 2766–2781.

- Francisco, C., Banaigs, B., Rakba, M. & Teste, J. (1986). Cystoseirols: novel rearranged diterpenoids of mixed biogenesis from Cystoseiraceae (brown marine algae). *J. Org. Chem.*, 51: 2707-2711.
- García, P.A., Hernández, A.P., San Feliciano, A. & Castro, M.A. (2018). Bioactive Prenyl- and Terpenyl-Quinones/Hydroquinones of Marine Origin. *Mar. Drugs*, 16(9): 292. <https://doi.org/10.3390/md16090292>.
- Glombitza, K.W., Rosener, H.U. & Müller, D. (1975). Bifuhalol und diphlorethol aus *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 14: 1115–1116.
- Gupta, S. & Abu-Ghannam, N. (2011). Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. *Trends. Food Sci Technol*, 22: 315-326.
- Jégou, C., Kervarec, N., Cérantola, S., Bihannic, I. & Stiger-Pouvreau, V. (2015). NMR use to quantify phlorotannins: the case of *Cystoseira tamariscifolia*, a phloroglucinol-producing brown macroalga in Brittany (France). *Talanta*, 135: 1–6.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D. & Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin. Interv. Aging.*, 13: 757–772.
- Lopes, G., Sousa, C., Silva, L.R., Pinto, E., Andrade, P.B., Bernardo, J., Mouga, T. & Valentão, P. (2012). Can phlorotannins purified extracts constitute a novel pharmacological alternative for microbial infections with associated inflammatory conditions?. *PLoS One*, 7: e31145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031145>.
- Pinteus, S., Silva, J., Alves, C., Horta, A., Fino, N., Rodrigues, A.I., Mendes, S. & Pedrosa, R. (2017). Cytoprotective effect of seaweeds with high antioxidant activity from the Peniche coast (Portugal). *Food Chem.*, 218: 591–599.
- Spavieri, J., Allmendinger, A., Kaiser, M., Casey, R., Hingley-Wilson, S., Lalvani, A., Guiry, M.D., Blunden, G. & Tasdemir, D. (2010). Antimycobacterial, antiprotozoal and cytotoxic potential of twenty-one brown algae (phaeophyceae) from British and Irish waters. *Phyther. Res.*, 24: 1724–1729.
- Vizetto-Duarte, C., Custódio, L., Acosta, G., Lago, J.H.G., Morais, T.R., De Sousa, C.B., Gangadhar, K.N., Rodrigues, M.J., Pereira, H., Lima, R.T., Vasconcelos, M.H., Barreira, L., Rauter, A.P., Albericio, F. & Varela, J. (2016a). Can macroalgae provide promising anti-tumoral compounds? A closer look at *Cystoseira tamariscifolia* as a source for antioxidant and anti-hepatocarcinoma compounds. *PeerJ*, 4: e1704. doi: 10.7717/peerj.1704.
- Vizetto-Duarte, C., Custódio, L., Gangadhar, K.N., Lago, J.H., Dias, C., Matos, A.M., Neng, N., Nogueira, J.M., Barreira, L., Albericio, F., Rauter, A.P. & Varela, J. (2016b). Isololiolide, a carotenoid metabolite isolated from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*, is cytotoxic and able to induce apoptosis in hepatocarcinoma cells through caspase-3 activation, decreased Bcl-2 levels, increased p53 expression and PARP cleavage. *Phytomedicine*, 23: 550–557.

- Wright, J.S., Johnson, E.R. & DiLabio, G.A. (2001). Predicting the Activity of Phenolic Antioxidants: Theoretical Method, Analysis of Substituent Effects, and Application to Major Families of Antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, 123: 1173-1183.
- Zubia, M., Fabre, M.S., Kerjean, V., Lann, K.L., Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M. & Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chem.*, 116: 693–701.



Chapitre 6

**CONCLUSION GÉNÉRALE
&
PERSPECTIVES**

Conclusion générale et perspectives

Les macroalgues marines représentent l'une des premières formes de vie terrestre et méritent d'être mieux connus. La flore algale constitue une source avec des intérêts multiples, écologiques et pharmaceutiques, Il est important de savoir sa diversité et ses potentialités biologiques pour une meilleure intégration et gestion.

Cette investigation de thèse avait pour objectif majeur, d'établir la première check-list des algues marines du Parc National d'Al-Hoceima et de valoriser l'algue brune *Carpodesmia tamariscifolia* de la Méditerranée marocaine.

Notre recherche comporte deux volets principaux : Le premier est floristique qui s'est axé sur l'étude de la phycoflore marine de sept sites distribués le long du littoral de PNAH (Cala Iris, Torres, Badis, Topo, Boumehdi, Tala Youssef et Rmod). Tandis que, le deuxième volet est axé vers les potentialités pharmacologiques (antioxydantes et cytotoxiques) de 12 fractions issues des extraits de *C. tamariscifolia*. Dans ce contexte, les questions biologiques préposées ont reçu une réponse pour la première fois ici et plusieurs remarques finales peuvent être tirées des données obtenues dans cette thèse.

La compilation des résultats floristiques de cette étude nous a conduit aux conclusions suivantes:

- ↪ La checklist des algues marines de PNAH, basée principalement sur nos propres collections originales et complétée par quelques références antécédentes a recensé un nombre total de 307 taxa acceptés, aux niveaux spécifiques et infra-spécifiques, appartenant à trois Phyla: Rhodophyta, Chlorophyta et Ochrophyta. Ces taxa sont représentés par 6 classes, 4 Rhodophyta (Bangiophyceae, Compsopogonophyceae, Florideophyceae et Stylonematophyceae), 1 Chlorophyta (Ulvophyceae), 1 Ochrophyta (Phaeophyceae).
- ↪ Les Rhodophytes sont représentés par le plus grand nombre d'espèces avec 208 taxa (68%) majoritairement de petite taille et appartenant à 19 ordres, 39 familles et 107 genres. La famille des Rhodomélacées détient la plupart des espèces (37) regroupées en 19 genres, suivie par les Ceramiaceae avec 23 espèces. En outre, *Ceramium* (12), *Gelidium* (12) sont les genres les plus riches en espèces parmi les algues rouges.

- ↪ Un total de 51 taxa appartenant aux Ochrophyta (Phaeophyceae) a été signalé dans ce catalogue, appartenant à 6 ordres et 13 familles différentes. Les Sargassaceae sont les plus diversifiés parmi les familles des algues brunes avec 14 taxa, suivie par les Dictyotaceae avec 9 espèces. De plus, parmi les 25 genres de Phaeophyta mentionnés dans le PNAH, le genre *Cystoseira* compte le plus grand nombre d'espèces (6).
- ↪ En ce qui concerne les Ulvophyceae, 48 taxa appartenant à 13 familles ont été signalés sur le littoral du parc. La famille la plus riche en espèces est celle des Cladophoraceae avec 17 taxa, suivie par les Ulvaceae avec 10 espèces. *Cladophora* et *Ulva* sont les genres les plus riches en espèces d'algues vertes du Parc, avec 11 et 10 espèces respectivement.
- ↪ En comparaison avec la checklist des algues marocaines établie par les études antérieures, notre liste contient plus de deux tiers (307 vs. 403) des taxa répertoriés sur la côte méditerranéenne du Maroc, représentant un pourcentage de 76%.
- ↪ La comparaison de nos résultats avec des travaux antérieurs réalisés dans deux sites au sein du Parc, montre que Quatre-vingt-seize de ces taxa n'ont pas été retrouvées dans nos échantillons et 93 sont nouvelles pour le PNAH. De même, l'identité taxonomique de 30 taxa a été modifiée et actualisée.
- ↪ Principalement, 211 taxa (144 Rhodophyta, 30 Phaeophyceae et 37 Ulvophyceae) ont été identifiés lors de toutes nos expéditions d'échantillonnage.
- ↪ En comparant les sept sites d'étude, Cala Iris et Rmod contiennent le plus grand nombre de taxa, avec 150 et 157 espèces respectivement, dépassant 70% de la totalité des espèces identifiés dans cette étude, Suivis par Tala Youssef avec une richesse en espèces intermédiaire de 99 taxa.
- ↪ Parmi ces espèces, 5 algues rouges ont été identifiées pour la première fois dans toute la Méditerranée : *Champia compressa*, *Diplothamnion jolyi*, *Polysiphonia havanensis*, *Tiffaniella gorgonea*, *Jania capillacea*.
- ↪ La découverte de ces cinq espèces en mer Méditerranée pourrait correspondre à des introductions récentes en raison du trafic maritime. En raison de leur taille relativement petite (*Diplothamnion jolyi*), elles n'auraient probablement pas été récoltées ou mal identifiées dans le cas contraire.

- ↪ Nos identifications systématiques nous ont permis également, de signaler neuf espèces nouvellement cités pour le Maroc, 8 Rhodophyta : *Antithamnionella boergesenii*, *Antithamnion decipiens*, *Erythrotrichia bertholdii*, *Lomentaria articulata* var. *linearis*, *Melanothamnus harveyi*, *Melanothamnus sphaerocarpus*, *Melanothamnus sphaerocarpus*, *Hypnea valentiae* et une Chlorophyta : *Bryopsis cupressina*.
- ↪ En outre, 12 autres espèces (11 algues rouges, et une algue verte) sont nouvellement enregistrées pour la côte méditerranéenne du Maroc. D'autre part, des anciennes signalisations sont confirmées pour 20 espèces en Afrique et au Maroc.
- ↪ Ces nouvelles découvertes indiquent que la biodiversité de la flore marine méditerranéenne est probablement plus riche. Les connaissances sur la diversité des algues fournies dans ce catalogue pourraient constituer une assise de base pour de futures enquêtes phylogénétiques sur les taxa de cette zone spécialement protégée d'importance méditerranéenne.

Concernant l'approche pharmacologique basée sur l'évaluation des fractions de *C. tamariscifolia*. Les travaux de recherche entrepris au cours de cette thèse nous ont permis de conclure que :

- ↪ Les rendements d'extraction de *C. tamariscifolia* ont montré une grande variabilité en fonction de la polarité du solvant. Une douzaine de fractions et sous-fractions organiques de polarité différente ont été obtenues, une fraction de l'hexane CtH, six fractions de dichlorométhane (CtD1; CtD2; CtD3.1; CtD3.2; CtD3.3; CtD3.4 et CtD3.5) plus 4 fractions méthanoliques (CtM1; CtM2; CtM3; CtM4).
- ↪ La détermination de la TPC dans les fractions de *C. tamariscifolia*, en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu, confirme la présence de phénols actifs redox dans toutes les fractions et suggère que leurs structures varient, certaines sont apolaires et d'autres sont polaires. La teneur en composés phénoliques est assez variable dans les différentes fractions, le TPC le plus élevé a été observé pour la fraction CtM2 ($10,9 \pm 0,1\%$ GAE) et le plus faible pour la fraction CtD3.2 ($1,1 \pm 0,03\%$ GAE).
- ↪ Toutes les fractions de *C. tamariscifolia* ont présenté une activité de piégeage des radicaux DPPH dépendante de la dose. La plus forte activité antioxydante (à $100 \mu\text{g/mL}$) a été obtenue avec la sous-fraction de CtD3.5 ($91,5 \pm 8,4\%$) et la plus faible avec la fraction de CtD1 ($16,4 \pm 0,9\%$).

- ↪ Ces résultats indiquent que cette espèce manifeste un pouvoir antioxydant très intéressant (en général supérieure à celui de nombreuses autres macro-algues, similaire à celui produite par le phloroglucinol et inférieure à celui généré par l'hydroquinone.
- ↪ Les effets cytotoxiques des fractions de *C. tamariscifolia* ont été évalués sur des cellules SH-SY5Y. Aucun effet cytotoxique n'a été observé pour les fractions de *C. tamariscifolia* à 10 µg/mL; toutefois, à 50 µg/mL, la plupart des fractions ont augmenté significativement ($P < 0,05$) la mortalité des cellules cancéreuses. La CtH et la plupart des fractions de CtD (sauf CtD1 et CtD3.2) ont entraîné une mortalité supérieure à celle de 6 µg/mL de cisplatine ou 5,5 µg / mL d'hydroquinone. Elle dépasse 75% pour la majorité de ces fractions. Cependant, les fractions de CtM présentent un faible effet cytotoxique ou aucun effet.
- ↪ En utilisant des fractions représentatives de *C. tamariscifolia* (CtH, CtD2, CtD3.5 et CtM2), le test Amplex Red H_2O_2 a montré que H_2O_2 était produit lors de l'autoxydation des fractions algales (100 µg/mL). La concentration en H_2O_2 varie de $0,68 \pm 0,046$ µM pour la fraction CtH à $2,8 \pm 0,21$ µM pour la fraction CtM2.
- ↪ De plus, nous observons une corrélation positive et significative ($P < 0,05$) entre la capacité antioxydante et les niveaux phénoliques, elle est plus prononcée lorsque seules les fractions les plus apolaires sont prises en compte, suggérant qu'elles existent dans l'algue différents types de polyphénols dotés d'activités antioxydantes différentes.
- ↪ Aucune corrélation notable entre les effets cytotoxiques des fractions de *C. tamariscifolia* et leur contenu phénolique n'a été observée pour toutes les fractions. Cependant, une corrélation positive et significative ($p < 0,05$) a été observée en considérant uniquement les fractions les plus apolaires ($r = 0,75$).
- ↪ En outre, une corrélation positive et significative ($p < 0,05$) ($r = 0,83$) a été observée entre les effets cytotoxiques des fractions les plus apolaires de *C. tamariscifolia* (à savoir, la CtH et les différentes fractions de CtD) et leur capacité antioxydante; cette corrélation n'a pas été observée pour les fractions de méthanol.
- ↪ Les résultats montrent également qu'il existe une corrélation positive entre la génération de H_2O_2 par les extraits et leur TPC ($r = 0,63$; $P > 0,05$), suggérant que les phénols présents dans les extraits sont probablement les responsables de la génération de H_2O_2 .

- ↪ Sur le plan chimique, la comparaison de la masse moléculaires précise des différents pics de chromatogrammes des fractions obtenues expérimentalement par HPLC-ESI/TOF/MS pour les cinq fractions représentatives analysées (CtH, CtD2, CtD3.5, CtM1 et CtM2) avec celles des phénols précédemment rapportés de *C. tamariscifolia*, nous a confirmé que des quantités significatives de différents phénols et/ou de certains de leurs isomères sont présentes dans nos fractions les plus apolaires, mais pas dans celles du méthanol.
- ↪ Il est pertinent de souligner que tous les composés identifiés de manière provisoire dans nos fractions représentatives sont des dérivés prénylés d'hydroquinone et qu'ils étaient presque exclusivement présents dans les fractions CtH et CtD.
- ↪ Au cours de ces travaux, nous avons pu évaluer plusieurs fractions de *C. tamariscifolia*, pour la première fois, et étudier la relation entre la cytotoxicité des différentes fractions et leur TPC. Nos résultats montrent que l'effet cytotoxique des fractions apolaires est étroitement lié à leur contenu en phénols, ce qui suggère que les composés responsables des effets cytotoxiques sont des phénols. Inversement, l'effet cytotoxique des fractions méthanoliques est négativement lié à leur contenu phénolique. Ce résultat indique que l'algue contient différents types de polyphénols et que les plus polaires sont moins ou pas cytotoxiques.
- ↪ Sachant que la teneur en phénol de ces extraits est liée positivement aux effets antioxydants et cytotoxiques observés et que les deux effets sont observés dans la même gamme de concentrations (10-100 µg/ml), les composés phénoliques sont probablement responsables à la fois des effets antioxydants et cytotoxiques.
- ↪ En considérant les résultats globalement, un mécanisme pro-oxydant peut être suggéré comme responsable de la cytotoxicité des fractions de *C. tamariscifolia*.
- ↪ Puisqu'il existe plusieurs dérivés prénylés d'hydroquinone potentiellement rédox actifs dans nos fractions CtH et CtD, ils sont probablement les candidats les plus prometteurs pour produire leurs effets cytotoxiques et antioxydants. Contrairement, l'effet cytotoxique est plus faible et l'effet antioxydant est dominant dans nos fractions méthanoliques (en particulier dans le cas de la fraction CtM2). Les composés responsables de ces effets ne sont pas connus puisque les hydroquinones prénylées, le phloroglucinol et certains de ses dimères et polymères ne sont pas présents dans ces extraits méthanoliques.

- ↳ Les hydroquinones prénylées identifiées dans nos extraits pourraient avoir un intérêt dans la chimiothérapie du cancer ou dans certaines conditions pathologiques particulières, par exemple le vitiligo ou certaines infections.
- ↳ En guise de conclusion, nos résultats montrent que toutes les fractions étudiées de *C. tamariscifolia* sont riches en phénols à activité rédox pouvant produire à la fois les effets cytotoxiques et antioxydants observés dans notre étude.
- ↳ Les fractions les plus apolaires ont un effet cytotoxique, probablement lié à des dérivés prénylés d'hydroquinone et à un mécanisme pro-oxydant. Ces fractions pourraient avoir un intérêt en tant que anticancéreux et dépigmentants topiques.

Nous espérons, par cette thèse, avoir contribué non seulement à une meilleure connaissance, mais aussi il convient de souligner l'importance des projets abordés sur l'étude de la diversité et la valorisation des ressources naturelles, en l'occurrence les macroalgues marines. Ces résultats encouragent la continuation des études sur l'utilisation de cette espèce en tant que source précieuse des antioxydants pour la création de nouveaux produits de santé, tels que des ingrédients fonctionnels, ou pour les industries pharmaceutiques.

La réalisation de ce projet de recherche a permis d'aboutir à certains de nos objectifs, mais certaines limitations restent présentes. Afin de compléter et approfondir la présente étude, nous proposons les axes suivants qui pourraient être abordés :

- ↳ Il y a des échantillons algales recueillis qui n'ont pas été identifiés dans cette étude car beaucoup d'entre eux n'ont pas pu être clairement caractérisés en raison de l'absence de caractéristiques critiques, ce qui montre la nécessité de poursuivre les investigations phycologiques afin de clarifier la diversité algale du PNAH et de compléter nos connaissances sur cette flore d'algues marines du Maroc.
- ↳ Nous prétendons également de généraliser cette étude systématique sur toute la côte méditerranéenne du Maroc et de fournir une checklist complète et actualisée de la flore algale de toutes les côtes marocaines.
- ↳ Du point de vue pharmaco-chimique de l'algue *C. tamariscifolia*, il est intéressant de purifier les antioxydants phénoliques existants dans les fractions de méthanol, qui devraient être étudiées à l'avenir en tant que source de phénols antioxydants.

- ↳ Les potentiels antiprolifératif, cytotoxique et anticancéreux des fractions actives de *C. tamaricifolia* doivent être étudiés sur d'autres lignées cellulaires cancéreuses et non cancéreuses.
- ↳ Il serait intéressant de pouvoir poursuivre les études phytochimiques dans le but d'identifier et d'isoler les composés actifs dans ces fractions algales afin de servir comme des principes actifs dans la fabrication de nouveaux médicaments.



ANNEXES



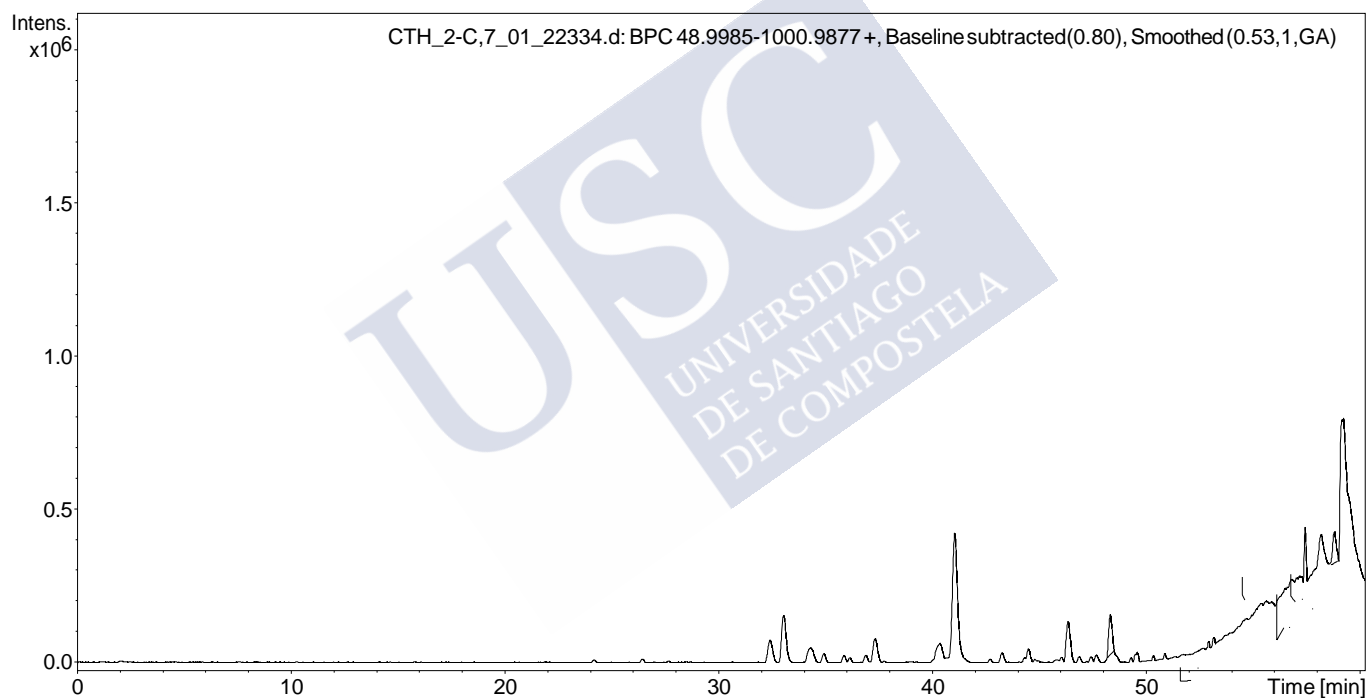


RIAIDT
UNIDADE DE ESPECTROMETRIA DE MASAS E PROTEÓMICA
Edificio CACTUS * Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (Spain)
Tel. 981 563 100. Ext. 16242 * Fax 981 528098
E-mail: sxemasas@usc.es
Web: <http://www.ti.usc.es/riaidt/masas/masas.htm>

INFORME COMPOSTOS HPLC-ESI-TOF

Analysis Info

Sample Name CTH_2-C,7_01_22334.d Acquisition Date 12/21/2016 8:28:02 PM
Method hplc_pos_bajo_50-700_egf.m Instrument microTOF



#	RT [min]	Area	Area %	Area Frac. %	Height
1	48.3	1269918	46.0	15.9	120701
2	52.4	1419364	51.5	17.7	54064
3	56.4	2758155	100.0	34.5	149634
4	57.2	414359	15.0	5.2	70913
5	57.7	1307720	47.4	16.3	112796
6	58.8	829243	30.1	10.4	83340

Nº Molecula Propuesta	Fórmula	Masa Exacta (M+H)	Masa Exacta (M+Na)	Nº Cmpd
1	C10H14O3	183,1016	205,0835	
2	C27H36O4	425,2686	447,2506	4,6
3	C34H44O7	565,3160	587,2979	
4	C34H44O7	565,3160	587,2979	
5	C34H44O7	565,3160	587,2979	
6	C28H40O5	457,2948	479,2768	1,3
7	C26H36O5	429,2635	451,2455	
8	C28H40O5	457,2948	479,2768	1,3
9	C27H36O4	425,2686	447,2506	4,6
10	C27H36O5	441,2635	463,2455	2,5
11	C27H36O5	441,2635	463,2455	
12	C27H36O5	441,2635	463,2455	
13	C27H36O5	441,2635	463,2455	

HPLC: En los picos 4,6 la masa puede corresponder al compuesto **2**.

En los picos 1,3 la masa puede corresponder al compuesto **6**

En los picos 1,3 la masa puede corresponder al compuesto **8**.

En los picos 4,6 la masa puede corresponder al compuesto **9**.

En los picos 2,5 la masa puede corresponder a los compuestos **10, 11, 12, 13**.



RIADT
UNIDADE DE ESPECTROMETRIA DE MASAS E PROTEÓMICA
Edificio CACTUS * Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (Spain)
Tel. 981 563 100. Ext. 16242 * Fax 981 528098
E-mail: sxemasas@usc.es
Web: <http://www.ti.usc.es/riaidt/masas/masas.htm>

INFORME COMPOSTOS HPLC-ESI-TOF

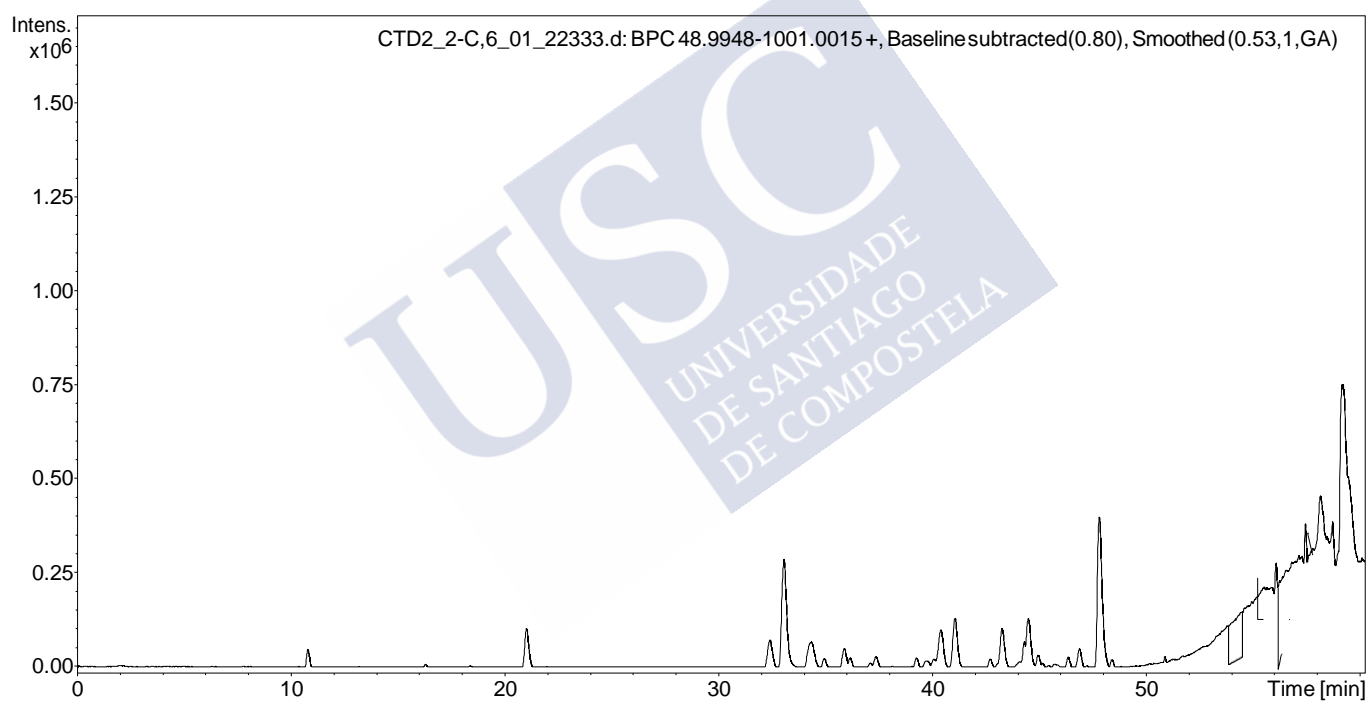
Analysis Info

Sample Name CTD2_2-C,6_01_22333.d

Acquisition Date 12/21/2016 7:15:02 PM

Method hplc_pos_bajo_50-700_egf.m

Instrument micrOTOF



#	RT [min]	Area	Area %	Area Frac. %	Height
1	43.2	1198261	28.7	11.0	93786
2	50.8	90530	2.2	0.8	15861
3	54.4	4168566	100.0	38.3	119732
4	56.2	2138334	51.3	19.7	218160
5	56.5	2161101	51.8	19.9	131758
6	57.4	574193	13.8	5.3	104284
7	58.7	539452	12.9	5.0	84275

Nº Molecula Propuesta	Fórmula	Masa Exacta (M+H)	Masa Exacta (M+Na)	Nº Cmpd
1	C10H14O3	183,1016	205,0835	
2	C27H36O4	425,2686	447,2506	1,6,7
3	C34H44O7	565,3160	587,2979	
4	C34H44O7	565,3160	587,2979	
5	C34H44O7	565,3160	587,2979	
6	C28H40O5	457,2948	479,2768	2,5
7	C26H36O5	429,2635	451,2455	
8	C28H40O5	457,2948	479,2768	
9	C27H36O4	425,2686	447,2506	1,6,7
10	C27H36O5	441,2635	463,2455	3,4
11	C27H36O5	441,2635	463,2455	
12	C27H36O5	441,2635	463,2455	
13	C27H36O5	441,2635	463,2455	

HPLC: En los picos 1, 6,7 la masa puede corresponder al compuesto **2**.

En los picos 2,5 la masa puede corresponder al compuesto **6**.

En los picos 1, 6,7 la masa puede corresponder al compuesto **9**.

En los picos 3,4 la masa puede corresponder a los compuestos **10, 11, 12 y 13**.



INFORME COMPOSTOS HPLC-ESI-TOF

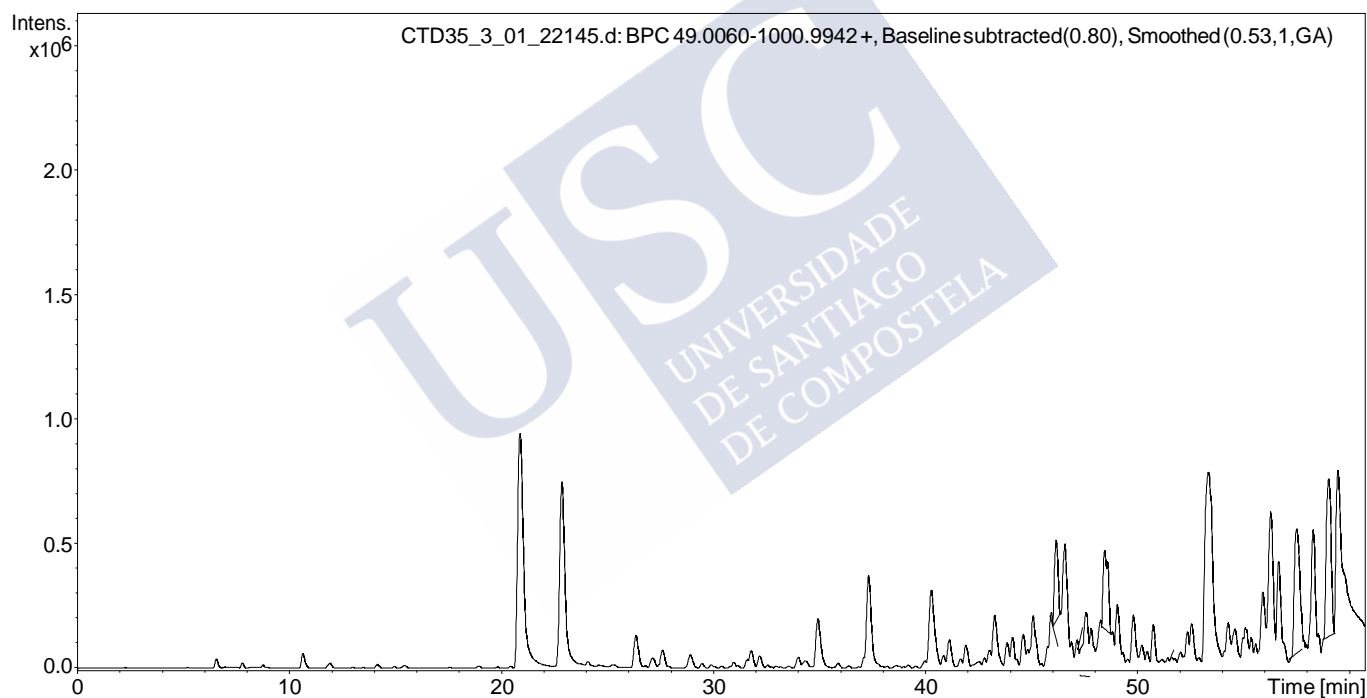
Analysis Info

Sample Name CTD35_3_01_22145.d

Acquisition Date 11/30/2016 4:57:42PM

Method hplc_pos_bajo_50-700_egf.m

Instrument micrOTOF



#	RT [min]	Area	Area %	Area Frac. %	Height
1	46.1	3763568	37.6	10.6	323946
2	46.6	4205219	42.0	11.9	330697
3	47.6	1959672	19.6	5.5	133294
4	48.2	417823	4.2	1.2	52325
5	48.4	5265660	52.6	14.9	315616
6	52.3	532001	5.3	1.5	71684
7	57.5	9229888	92.1	26.1	499559
8	59.0	10020274	100.0	28.3	632255

Nº Molecula Propuesta	Fórmula	Masa Exacta (M+H)	Masa Exacta (M+Na)	Nº Cmpd
1	C10H14O3	183,1016	205,0835	
2	C27H36O4	425,2686	447,2506	7,8
3	C34H44O7	565,3160	587,2979	
4	C34H44O7	565,3160	587,2979	
5	C34H44O7	565,3160	587,2979	
6	C28H40O5	457,2948	479,2768	3,5
7	C26H36O5	429,2635	451,2455	
8	C28H40O5	457,2948	479,2768	3,5
9	C27H36O4	425,2686	447,2506	7,8
10	C27H36O5	441,2635	463,2455	1,2,4,6
11	C27H36O5	441,2635	463,2455	
12	C27H36O5	441,2635	463,2455	
13	C27H36O5	441,2635	463,2455	

HPLC: En los picos 7,8 la masa puede corresponder al compuesto **2**.

En los picos 3,5 la masa puede corresponder al compuesto **6**.

En los picos 3,5 la masa puede corresponder al compuesto **8**.

En los picos 7,8 la masa puede corresponder al compuesto **9**.

En los picos 1, 2, 4, 6 la masa puede corresponder a los compuestos **10, 11, 12,13**.

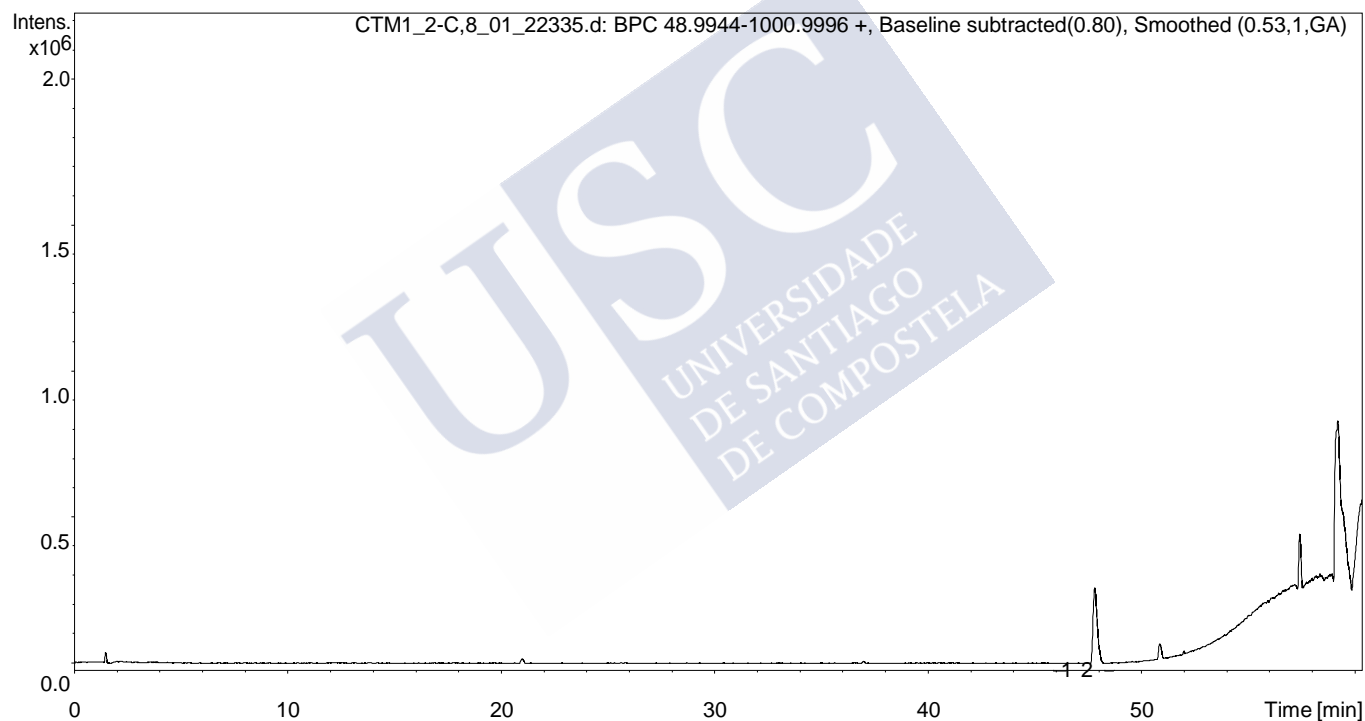


RIADT
UNIDADE DE ESPECTROMETRIA DE MASAS E PROTEÓMICA
Edificio CACTUS * Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (Spain)
Tel. 981 563 100. Ext. 16242 * Fax 981 528098
E-mail: sxemasas@usc.es
Web: <http://www.ti.usc.es/riaidt/masas/masas.htm>

INFORME COMPOSTOS HPLC-ESI-TOF

Analysis Info

Sample Name CTM1_2-C,8_01_22335.d Acquisition Date 12/21/2016 9:41:01 PM
Method hplc_pos_bajo_50-700_egf.m Instrument micrOTOF



#	RT [min]	Area	Area %	Area Frac. %	Height
1	46.5	13891409	100.0	72.1	364654
2	48.2	5380671	38.7	27.9	227355

Nº Molecula Propuesta	Fórmula	Masa Exacta (M+H)	Masa Exacta (M+Na)	Nº Cmpd
1	C10H14O3	183,1016	205,0835	
2	C27H36O4	425,2686	447,2506	
3	C34H44O7	565,3160	587,2979	
4	C34H44O7	565,3160	587,2979	
5	C34H44O7	565,3160	587,2979	
6	C28H40O5	457,2948	479,2768	
7	C26H36O5	429,2635	451,2455	
8	C28H40O5	457,2948	479,2768	
9	C27H36O4	425,2686	447,2506	
10	C27H36O5	441,2635	463,2455	1,2
11	C27H36O5	441,2635	463,2455	
12	C27H36O5	441,2635	463,2455	
13	C27H36O5	441,2635	463,2455	

HPLC: En los picos 1,2 la masa puede corresponder a los compuestos **10, 11, 12, 13**.

Phenols previously identified in *C. tamariscifolia*