

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 République Algérienne Démocratique et Populaire
 وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
 Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
 المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل
 Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
 d'ingénieur en sciences de la mer**

Option : Aquaculture

Thème :

*Contribution à la maîtrise de l'élevage larvaire du mollusque
 bivalve *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819)*

Présenté par :

- AMEUR Zehor
- AMARA Mohamed

Soutenu le 19/07/2011 devant le jury suivant :

Mr ZOUAKH.D	Maitre De Conférence	ENSSMAL	Président
Melle MERBAH.S	Attachée de recherche	CNRDPA	Promotrice
Mr BELHASNAT.K	Maitre de conférence	ENSSMAL	Examinateur
Melle KORD.A	Attachée de recherche	CNRDPA	Examinatrice

Promotion : 2010/2011

Remerciements

Nous remercions Dieu de nous avoir aidé et donné le courage pour réaliser ce mémoire de fin d'étude.

Nous remercions M^{lle} MERBAH Sihem attachée de recherche au CNRDPA d'avoir accepté de diriger cette étude ; l'énergie et le temps qu'elle nous a consacré durant ce travail, les conseils et les critiques qu'elle nous a prodigués ont été d'une grande aide, et surtout d'avoir supporter notre désordre.

Nos profonds remerciements vont à Mr ZOUAKH.D Maître de conférence à L'ENSSMAL d'avoir accepté de présider le jury malgré ces innombrables obligations.

Nous somme très reconnaissants à Mr BELHASNAT.K Maître de conférences à l'ENSSMAL pour sa participation au jury d'évaluation et d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous remercions également M^{lle} KOURD.A attachée de recherche au CNRDPA qui a accepté d'examiner ce travail.

Merci beaucoup à toutes les personnes du CNRDPA pour leurs aide ponctuelle mais néanmoins indispensable surtout NABIL, RACHIDA et Mme CHABAANI.

Enfin, nous remercions nos parents, nos frères et sœurs pour leur soutien - moral et financier! - durant toutes ces années d'études et tous nos ami(e)s passés et présents, qui nous ont donné toute leur amitié et leur soutien.

Sommaire

Introduction	3
Chapitre premier : Généralités.	
1. La conchyliculture.....	5
1.1 Définition de la mytiliculture.....	5
1.2 Importance de la mytiliculture.....	6
2. La production mondiale.....	7
3. La mytiliculture en Algérie.....	8
4. Présentation de la moule <i>Mytilus gallorovincialis</i>	9
4.1 Systématique.....	9
4.2 Morphologie.....	10
4.3 Anatomie.....	11
4.4 Reproduction.....	13
4.4.1 Mode de reproduction et reconnaissance des sexes.....	13
4.4.2. L'évolution des gonades.....	14
4.4.3. Facteurs influençant l'évolution des gonades.....	14
4.5. Les différentes phases du développement larvaire de <i>Mytilus galloprovincialis</i>	16
4.6. Métamorphose et fixation.....	17
4.7 Alimentation.....	18
4.8. Croissance.....	18
4.9 Respiration.....	19
4.10 Ecologie de l'espèce.....	19
4.10.1 Habita et répartition géographique.....	19
4.10.2 Répartition bathymétrique.....	20
5. Les différents modes d'élevage de la moule <i>Mytilus galloprovincialis</i>	21
5.1. La culture sur bouchots.....	21
5.2. La culture en suspension.....	21
5.3. La culture à plat.....	22

Chapitre deuxième : la culture des microalgues.

1. Matériels et méthodes.....	24
1.1. Souches de microalgues utilisées.....	24
1.2. Salle de culture.....	26
1.2.1. Conditions générales de culture.....	26
1.3. Préparation de milieu de culture.....	27
1.4. Méthodes de cultures des micros algues.	28
1.4.1. Les cultures souches et mères.....	30
1.4.1.1 Cultures souches.....	30
1.4.1.2. Culture mère.....	30
1.4.2. Cultures à échelle intermédiaire.....	32
1.5. Croissance de microalgue.....	33
1.5.1. Suivi de densités des cultures.....	34
1.5.2. Comptage cellulaire.....	34
2. Résultats.....	36
2.1. Suivi de la culture de <i>Tetraselmis suecica</i>	36
2.2. Suivi de la culture de <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	38
2.3. Culture de <i>Pavlova lutheri</i>	40
3. Discussion.....	42

Chapitre troisième : l'élevage larvaire.

1. matériels et méthodes.....	45
1.1. Acquisition de géniteurs.....	45
1.2. Induction de la ponte.....	45
1.3. Fécondation.....	46
1.4. Développement embryonnaire.....	47
1.5. Récupération des larves D.....	48
1.6. Maintenance des larves.....	48
1.6.1. Nutrition et alimentation.....	48
1.6.2. Aération.....	49
1.6.3. Changement d'eau et lavage.....	49
1.7. Suivi de la croissance des larves.....	49

2. Résultats.....	50
2.1. Induction de la ponte.....	51
2.2. Fécondation et développement embryonnaire.....	51
2.3. Le développement larvaire.....	53
3. Discussion.....	56
Conclusion.....	61

Références bibliographiques

Annexes.

Liste des figures :

Figure1 : la conchyliculture mondiale (source FAO 2010).

Figure 2: *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819).

Figure3: Schéma représentant la face interne de la moule, valve gauche (Villeneuve, 1965).

Figure 4 : anatomie interne de la moule (Ducruet.J, 2000).

Figure 5: Phases larvaires et post-larvaires du cycle de vie de la moule (Toupoint, 2009)

Figure 6. Répartition géographique de *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) (Source : www.sealifebase.org)

Figure7 : principe de la culture sur bouchots (source : maptitecantine.canalblog.com)

Figure 8: préparation du milieu F/2

Figure 9: Processus de culture algale montrant les différents intrants nécessaires.

Figure 10: étapes de production algale.

Figure11 : courbe de croissance des microalgues culture en batch montrant les différentes phases de culture (A.Blancheton, 1986).

figure12: cellule malassez

Figure13: *Tétraelmis suecica* (X100).

Figure 14: variation de concentration de *Tétraelmis suecica* dans le milieu F/2 PROVASOLI modifié en fonction de temps exprimée en Log_2 (nombre de cellule/ml).

Figure15: *Phaeodactylum tricorutum* A (X40) B(X100).

Figure16: chute de densité cellulaire de *Phaeodactylum tricorutum*.

Figure 17: croissance de *Phaeodactylum tricorutum* dans le milieu F/2 Provasoli modifié exprimée en Log_2 (nombre de cellule/ml).

Figure 18 *Pavlova lutheri* (X40)

Figure 19 : croissance de *Pavlova lutheri* dans le milieu F/2 PROVASOLI modifié exprimée en Log_2 (nombre de cellule/ml).

Figure 20: induction de la ponte chez *Mytilus galloprovincialis* par choc thermique.

Figure 21 : mélange de gamètes mâles et femelle de *Mytilus galloprovincialis*.

Figure 22: principe de fonctionnement du logiciel Tsview

Figure 23 : émission de gamètes mâle et femelle de la moule *Mytilus galloprovincialis*.

Figure 24: spermatozoïdes et ovocyte de la moule *Mytilus galloprovincialis*

Figure 25 : développement embryonnaire de *Mytilus galloprovincialis*.

Figure 25 : larves D de *Mytilus galloprovincialis* (x40).

Figure 26 : la larve umbo-véligère (x40) um : umbo

Figure 27 : Croissance en longueur de larves de la moule *Mytilus galloprovincialis*

Figure 28 : croissance de la larve D de la moule *Mytilus galloprovincialis* a différentes température

Liste des tableaux :

Tableau I: composition en lipides, taille et concentrations maximales de trois espèces de microalgues utilisées. (M. Nedelec, 2009)

Tableau II: variation de la concentration cellulaire de *Tetraselmis suecica* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log_2 (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 Provasoli.

Tableau III: variation de la concentration cellulaire de *Phaeodactylum tricornutum* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log_2 (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 Provasoli.

Tableau IV: variation de la concentration cellulaire de *Pavlova lutheri* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log_2 (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 PROVASOLI modifié

Tableau V: comparaison entre les différentes espèces de microalgues cultivées

Tableau VI: évolution des stades embryonnaires de *Mytilus galloprovincialis* à $22^\circ \text{C} \pm 1$

Tableau VII : longueur moyenne de larves D à $22^\circ \text{C} \pm 1$

Tableau VIII : comparaison de la taille des ovocytes

Tableau IX : temps de développement larvaire de la moule *Mytilus galloprovincialis* à 17°C et 22°C et de *Perna perna* à 21°C

Introduction

L'activité conchylicole a débuté en Algérie depuis 1921 par la création de la station de Bou-Ismaïl qui a pour but la détermination des meilleures méthodes et lieux pour pratiquer l'ostréiculture et la mytiliculture (FAO, 2011), 1940 a commencée à l'exploitation du lac Mellah à el Kala. En 1973 et avec l'appui de la FAO d'un programme comportant deux axes principaux qui sont l'amélioration des techniques de pêche et essais de mytiliculture (*Mytilus galloprovincialis*) et d'ostréiculture (*Crassostrea gigas*) a été entamé.

Actuellement, grâce à la subvention du ministère de la pêche et des ressources halieutiques, cette activité est pratiquée par des opérateurs privés, pratiquant la conchyliculture en mer ouverte, et produisant quelques dizaines de tonnes de moules méditerranéennes *Mytilus galloprovincialis* à partir de naissains issues de moulières naturelles parsemées tout au long des côtes. Cette forme d'exploitation est une activité récente en Algérie et ne compte que deux fermes conchylicoles réellement actives, celle de Ain Taya (W. Alger) et de Ain Tagourait (W. Tipaza).

Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) est un Mollusque Bivalve rencontré dans les moulières naturelles sur des substrats rocheux de l'étage médiolittoral inférieur ou de l'infra-littoral supérieur, où elle forme avec la moule africaine *Perna perna* de larges moulières qui font parties des peuplements de la biocénose des algues photophiles (Pères & Picard, 1964). Cette espèce a fait l'objet d'étude par plusieurs auteurs, Haouchine (1995) sur l'écologie et la biologie de la reproduction, Djediat (1993) sur l'histophysiologie de la gonade femelle de *Mytilus galloprovincialis* et aussi Chebab (1996) sur l'amélioration des techniques de captage en milieu naturel et Merbah (2009) sur la croissance et la faune associée de l'espèce.

Pour assurer une source de naissains constante et ne pas sollicités les gisements de moulières naturelles au-delà de la limite d'une exploitation durable, plusieurs travaux ont été réalisés pour assurer une production de naissains de moule au niveau des écloséries des mollusques bivalves parmi ces travaux, les travaux de Helm et al (2006), les travaux de Ruiz.M et al (2008) et de Aarab.L et al (2011).

Ce présent travail est une contribution à l'étude de la reproduction artificielle et l'élevage larvaire de la moule *Mytilus galloprovincialis*. Le premier chapitre comprend une présentation de l'espèce étudié, sa biologie, sa reproduction et ainsi sa répartition géographique, le chapitre deux est consacré pour la culture des microalgues destinés à l'alimentation des larves. Un troisième chapitre englobe dans sa première partie l'essai de l'induction de la ponte et fécondation et l'élevage larvaire des larves de *Mytilus galloprovincialis* dans la deuxième partie.

Chapitre premier

Les généralités

La connaissance des bases biologiques des mollusques bivalves est indispensable pour la maîtrise des différentes étapes de leur élevage dont fait partie des opérations d'écloserie et d'élevage larvaire, et nécessaire pour la résolution des problèmes liés à celle-ci, il semble intéressant de citer quelques notions concernant la biologie de la moule *Mytilus galoprovincialis* qui caractérise la mytiliculture en Algérie.

Le chapitre suivant présente un résumé des informations générales et essentielles sur l'espèce en question. Des ouvrages et des publications de qualité et complets, sur la biologie des moules tel que Base biologique et écologique de l'aquaculture de Barnabé ou Biologie de l'huitre et de la moule par Marteil, travaux auxquels on se réfère souvent ici.

1. La conchyliculture :

Selon la FAO l'aquaculture est «l'élevage d'organismes aquatiques (poissons, mollusques, crustacés, plantes aquatiques...). L'aquaculture des mollusques concerne principalement l'élevage des coquillages ou conchyliculture.

La conchyliculture est la plus ancienne des activités aquacoles (Barnabé, 1991). Le terme de conchyliculture est récent et date du milieu du XX^{ème} siècle, c'est une aquaculture essentiellement marine. C'est également une activité vivrière principalement développée en Asie: des Ostréidés (huîtres), des Mytilidés (moules), des Pectinidés (pétoncles), des Vénéridés (palourdes) sont élevés. (IFREMER, 2006).

Depuis quelques années, une conchyliculture d'eau douce apparaît en Chine avec la culture d'escargot d'eau douce (*Cipangopaludina chinensis*), de cygne (*Anodonta cygnea*) et de clam d'Asie (*Corbicula fluminea*). La production 2008 pour ces espèces est de 220 000 tonnes (IFREMER, 2006).

1.1 Définition de la mytiliculture.

La mytiliculture est l'une des branches de la conchyliculture qui désigne l'élevage des moules, elle se fait dans les eaux côtières, soit en surface, où les jeunes moules sont répartis sur terrains océaniques situés dans la zone de balancement de la marée (la culture à plat ou la culture sur les bouchots), ou dans des eaux peu profondes (culture en suspension: la table mytilicoles, la soucoupe balastable, et les filières). La légende attribue le premier élevage de

moule à un naufragé Irlandais Patrice Walton, réfugié dans la baie de l'Aiguillon. Cherchant à attraper des oiseaux, il posa des filets tendus sur des perches (Marteil, 1979).

1.2. Importance de la mytiliculture.

L'activité mytilicole a d'importance économique et écologique notable.

- **Importance économique :**

La conchyliculture est fondamentalement un mode d'exploitation extensif similaire aux élevages terrestres extensifs. Cependant, les degrés d'intervention varient considérablement d'un pays à l'autre pour contrôler et améliorer la production. (Troadek.J.P, 1985).

Les moules peuvent constituer une source de protéines bon marché, elles sont de plus en plus consommées crues ou cuites, il est facile d'en faire des conserves et elles entrent dans la fabrication de plats cuisinés (Lubet et Dardignac, 1976 in Petersen.A.K et al, 2010), ce qui fait de la moule l'espèce la plus largement cultivée en aquaculture, avec une production globale en 2006 étant estimée à 1.8 million de tonnes et évaluée à plus de \$1.2 milliards USD (la FAO, 2008) (Petersen.A.K et al, 2010).

Dans quelques pays, le nombre de personnes vivant de la conchyliculture leur donne un poids économique et un pouvoir politique suffisant dans l'accès aux sites et le maintien de la qualité de l'environnement (Troadek.J.P, 1985).

- **Importance écologique :**

L'élevage des bivalves joue un rôle crucial dans les écosystèmes côtiers, en raison des interactions écologiques entre les stocks cultivés et leur environnement, *revue dans* Dowd (2005, in Thomas.Y et al, 2006).

La conchyliculture, un facteur de diminution de la matière organique en suspension et donc contribue au maintien d'un équilibre trophique et à réguler le développement des blooms phytoplanctoniques et d'éclaircissement des eaux (Berger.C, 2007).

Les moules ont déjà été largement utilisées lors de programmes de surveillance de la qualité des eaux littorales (le RNO, Réseau National d'Observation de l'IFREMER; le Mussel Watch, le programme européen BIOMAR, "*Biochemical Markers of Environmental Contamination in Marine Ecosystems*"). (Devier.M.H, 2003).

2. la production mondiale.

Selon le FAO (2010) en 2008, la conchyliculture représente 24,9% de la production aquacole mondiale avec une production de 13 millions de tonnes (en stagnation par rapport à 2007) pour un chiffre d'affaire de 13.2 milliards d'US \$.

La conchyliculture est essentiellement asiatique, mais est présente sur les autres continents, à l'exception de l'Afrique (pour des productions significatives) (figure1). Les principales espèces composant la production de mollusques en 2008 étaient les huîtres (31,8 pour cent), les palourdes et les clams (24,6 pour cent), les moules (12,4 pour cent) et les pétoncles (10,7 pour cent). Globalement, la production de mollusques a augmenté à un rythme moyen de 3,7 pour cent par an entre 2000 et 2008, mais sur la même période, la production «de luxe» d'ormeaux est passée de 2 800 tonnes à 40 800 tonnes, soit une croissance annuelle de 39,9 pour cent. (FAO, 2010).

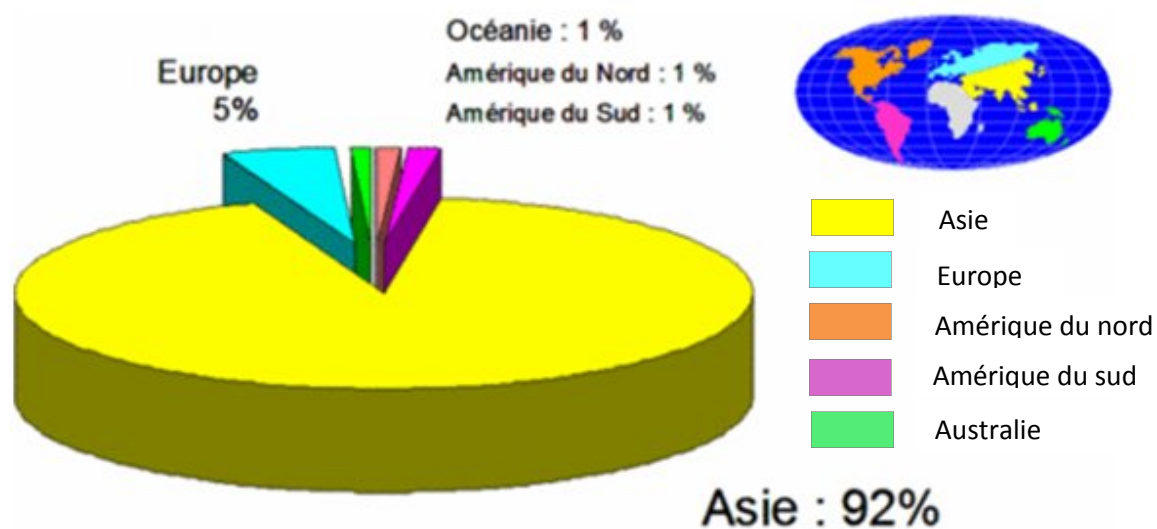


Figure1 : la conchyliculture mondiale (FAO 2010).

La moule méditerranéenne *Mytilus galloprovincialis* est produite principalement en Italie, France et la Grèce avec une production totale de 177 271 tonnes (FAO 2000). (Voir annexe01).

3. la mytiliculture en Algérie.

L'aquaculture algérienne est en phase de démarrage en matière de production, actuellement la conchyliculture pratiquée par un opérateur privé produisant quelques dizaines de tonnes de moules méditerranéennes et d'huîtres creuses du Pacifique. (FAO, 2011)

En perspective du développement de cette branche d'activité très lucrative ou l'investissement est relativement peu onéreux par rapport à l'autre activité aquacoles, le ministère de la pêche et des ressources halieutiques a mis en place un programme répartie sur 05 zones productions et prévoit l'installation de 25 exploitation de conchyliculture en mer ouverte (Boutouchent et Mila, 2005).

4. Présentation de la moule *Mytilus galloprovincialis* :

Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819) est un mollusque appartenant à la classe des Bivalves. Les moules font partie de la famille des mytilidés caractérisés par des valves égales, un ligament presque toujours externe, une charnière sans dent (ou avec des dents très réduites), des branchies à filaments séparés, deux muscles adducteurs (l'antérieur est rarement absent), un pied allongé et un byssus. Le genre *Mytilus* extrêmement répandu dans le monde renferme plusieurs espèces dont *Mytilus galloprovincialis*.

Les caractères systématiques de l'espèce ont été décrits par Pallary (1921 in Djediat, 1993) et in Djediat (1993) :

- la forme générale est en fer de hache très caractéristique,
- la coloration de l'intérieur des valves est d'un bleu ardoisé très foncé, presque noir vers le bord postérieur et presque blanc sous les crochets,
- la charnière se compose de trois dents conico-manchonnées apparentes sur chaque valve. Elle est de type dysodonte. Il y a disparition des dents cardinales du type hétérodonte,
- la musculature comporte deux muscles adducteurs d'inégale importance. L'impression musculaire postérieure forme un 6 (figure 2), spécifique de l'espèce, l'autre est résiduel : *Mytilus galloprovincialis* est un dimyaire hétéromyaire.



Figure 2: *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819).

A: vue extérieur des coquilles,

B: vue intérieur des coquilles,

C : empreinte musculaire en forme de 6.

4.1. Systématique (source : www.zipcodezoo.com)

Embranchement :	Mollusque
Classe :	Bivalves (Linnaeus, 1758)
Sous-classe :	Metabranhia
Superordre :	Filibranhia
Ordre :	Pteriomorpha
Super-Famille :	Mytiloidae
Famille :	Mytilidae (Rafinesque, 1815)
Genre :	Mytilus
Espèce :	<i>Mytilus galloprovincialis</i> (Lamarck, 1819)

4.2. Morphologie :

- **Aspect extérieur :**

La coquille plus ou moins renflée, possède une extrémité pointue et l'autre arrondie. Elle comprend deux valves unies par un ligament. La couleur, généralement bleu noir, peut toute fois être brune, voir jaune (figure2). On peut observer de fines stries concentriques qui sont des stries d'accroissement représentant les étapes de la croissance de l'animal (figure3) (Marteil, 1976).

La taille commune de la moule varie entre 5 et 8 cm ; avec un maximum de 15 cm (Boudjama et Ourari, 2005).

- **Aspect intérieur :**

La coloration de l'intérieur de la valve est bleu ardoisé très foncé ; presque noir vers les bords postérieurs, et presque blanc sous les crochets (figure2)(Djediat, 1993).

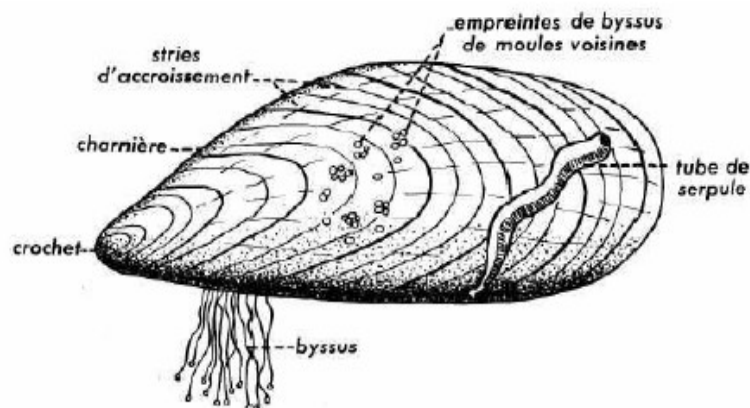


Figure3: Schéma représentant la face interne de la moule, valve gauche (Villeneuve, 1965).

4.3. Anatomie : (figure4)

- **Charnière et ligament :**

La charnière est réduite et l'union des valves est assurée à peu près exclusivement par le ligament. Ce dernier offre l'aspect d'une étroite bande brunâtre qui court le long de la charnière. Il est essentiellement formé de conchyoline (substance apparentée à la chitine) et est constitué d'une partie externe qui est étirée lors de la fermeture des valves et d'une partie interne que cette fermeture comprime. Ces deux couches, par leur élasticité, tendent à provoquer l'ouverture de la coquille (Marteil, 1976).

Le ligament est sécrété par le manteau au niveau de la zone dorsale située entre les deux lobes Grasse et al (1961 in Boudjama et Ourari, 2005).

- **Le manteau :**

Le manteau est une enveloppe pellucide, dans lequel se trouvent les muscles, le système nerveux et les vaisseaux sanguins (figure3) (SRCNMN, 2004 in Meziane et Sefasfa, 2008).

Le manteau joue un rôle non négligeable dans la circulation de l'eau au niveau des branchies ; il participe à la respiration grâce à un échange direct de gaz avec l'eau environnante et accumule des réserves. Toutefois, son rôle principal est d'assurer la formation de la coquille (Marteil, 1976).

- **Les muscles adducteurs :**

Deux muscles adducteurs dont un, l'anérieur, est réduit, s'opposent à l'action mécanique du ligament : par leur contraction ils ferment la coquille (Marteil, 1976).

Insérés perpendiculairement aux valves, ils marquent sur la face interne des valves leurs insertions d'impressions (Boudjama et Ourari, 2005).

- **Le pied et le byssus:**

Le pied est une saillie musculaire située au-dessous de la masse viscérale (figure4). Sa grande mobilité est due à l'existence de deux systèmes de faisceaux musculaires, l'un inséré sur les valves, l'autre sans rapport avec elles.

La glande byssogène occupe, chez la moule, la plus grande partie du pied où elle forme un sillon entouré sur presque toute sa longueur d'un épais manchon de cellules glandulaires. Ce sillon aboutit à une cavité byssogène débouchant à l'extérieur par le pore pédieux.(Marteil, 1976).

Le byssus, de nature protéinique, est constitué de nombreux filaments terminés par un disque adhésif. Leur résistance est considérable ; toutefois, la moule peut les rompre les uns après les autres, ce qui lui permet de se déplacer sur son support et de se refixer un peu plus loin. (Marteil, 1976).

- **Les branchies :**

Les branchies ou cténidies sont une caractéristique majeure des lamellibranches (Helm et al, 2006), elles consistent en deux grands organes en feuilles opérants deux séries de phénomènes, la respiration et la filtration de la nourriture à partir de l'eau.

Elles sont au nombre de deux. Reliées à la masse viscérale par l'intermédiaire de l'axe branchial, chacune est constituée de deux rangées de filaments aplatis, ces filaments se dirigent vers la face ventrale du mollusque (branche directe ou descendante), se recourbent brusquement, puis remontent vers la face dorsale (branche réfléchie ou ascendante)

Les filaments sont tous semblables et disposés en séries uniformes (branchies « lisses »). (Marteil, 1976).

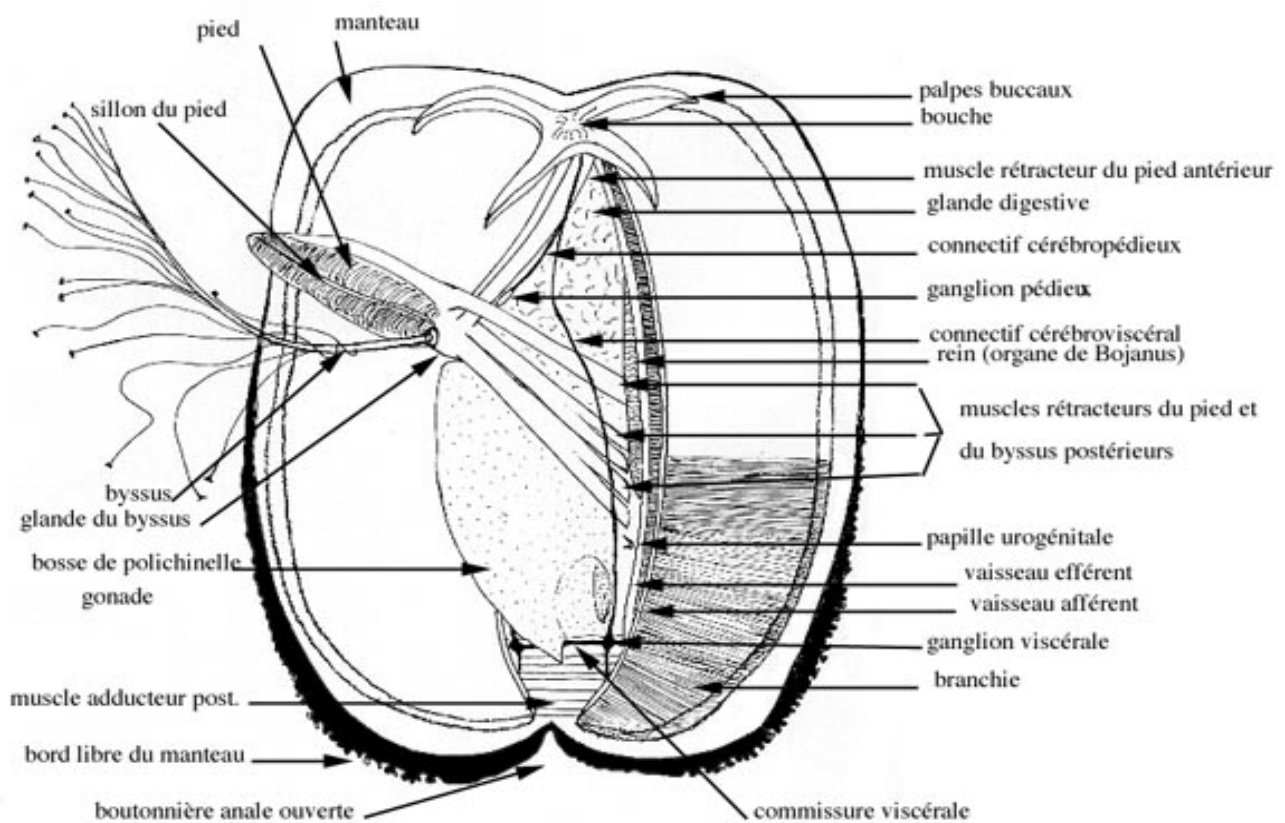


Figure 4 : anatomie interne de la moule (Ducruet.J, 2000).

4.4 Reproduction

4.4.1 Mode de reproduction et reconnaissance des sexes :

Les moules sont des animaux à sexes séparés et le nombre des mâles est à peu près égal à celui des femelles. Lubet (1959 in marteil 1976) a suivi pendant plusieurs années le cycle de nombreux individus et n'a jamais constaté de changement de sexe.

Elles sont dépourvues de caractères sexuels secondaires. Toutefois, en période de maturité, la couleur de la gonade nous permet de déterminer le sexe. Ainsi, la gonade femelle aura des teintes allant du jaune- orangé au rose-saumon, tandis que la gonade male sera blanche-jaunâtre (Haouchine, 1995).cette coloration n'est pas suffisante pour pouvoir discerner avec certitude le sexe, (Djediati, 1993), l'examen de couleur de la gonade doit être donc suivi d'un examen microscopique.

Chez la moule, la glande génitale ou gonade s'étend de façon diffuse dans le manteau. Elle est constituée d'une multitude de follicules (masses de cellules sécrétrices entourant l'extrémité en cul-de-sac du canal excréteur) où se forment, selon le sexe, les ovules ou les spermatozoïdes. Les canaux excréteurs ou gonoductes se regroupent jusqu'à ne plus former que quelques troncs principaux qui convergent en dessous du péricarde et les gonoductes terminaux, un de chaque côté du corps, aboutissent à deux papilles génitales situées près du muscle adducteur postérieur (Marteil, 1976)

4.4.2. L'évolution des gonades.

Chiperfield (1953) est le premier à distingué chez *Mytilus edulis* différentes étapes dans le développement de la gonade. Il les a résumées sous forme d'une échelle qui a été ensuite reprise par de nombreux auteurs, plus ou moins modifiée et appliquée à d'autres mollusques (Marteil, 1976).

Elle comprend :

Un stade 0 qui correspond à la phase de repos sexuel, manteau prend un aspect très homogène et une couleur ivoire ou orangée

Un stade I où le manteau apparaît moins homogène que précédemment ; les follicules commencent à se développer et dessinent un fin réseau que l'on peut apercevoir ;

Un stade II où les follicules deviennent de plus en plus apparents ; le manteau prend une teinte propre à chaque sexe ;

Un stade III au cours duquel la maturité sexuelle est atteinte : les gamètes sont prêts à être émis.

4.4.3. Facteurs influençant l'évolution des gonades

Chez les mollusques bivalves en particulier les mytilidés, le cycle sexuel semble sous la dépendance des facteurs du milieu ; entre autre la température, la salinité, l'oxygène dissous et la teneur en phytoplancton (Haouchine, 1995).

a) Salinité.

Selon Luby (1959 in Marteil, 1976), la salinité ne semble pas avoir une grande influence sur l'évolution des gonades note que dans le bassin d'Arcachon, les salinités sont assez uniformes en été, alors qu'en hiver et au printemps on note de grandes variations : certaines

stations ont un caractère franchement océanique tandis que d'autres deviennent nettement saumâtres. A la fin de l'hiver et au début du printemps, il remarque que toutes les moules de ce bassin présentent le même degré d'évolution sexuelle.

b) *Température.*

Les observations faites par divers auteurs indiquent la présence d'un lien entre la gamétogénèse et la température. L'influence de ce facteur est cependant plus ou moins nette selon les stades considérés (Marteil, 1976).

D'après Chipperfield (1953) in (Marteil, 1976) la gamétogénèse ne début que lorsque la température de l'eau dépasse 7°C. Lubet (1959), de son côté, observe un arrêt lorsque l'hiver est très froid et les températures sont au-dessous de 7-8° C,

Le temps nécessaire à la maturation des gonades (stade I et II), qui peut varier de trois à six semaines, d'après Chipperfield(1953) in (Marteil, 1976) est d'autant plus court que la température monte rapidement.

Influence sur la longueur de la période de reproduction (stade III). Celle-ci dépend de la température moyenne annuelle des eaux. Plus cette moyenne est élevée, plus la reproduction dure longtemps. Les moules tropicales présentent un cycle étalé sur toute l'année. Raimbault, (1966) et Desgouille, (1969) observent en méditerranée des pontes durant la majeure partie de l'année avec maximums au printemps et à l'automne. (Marteil, 1976).

L'achèvement de la reproduction. Apparition du stade 0 et sa durée. Sur les côtes du sud-ouest de la France, Lubet (1959) constate que la période de reproduction se termine à la fin du printemps ou au début de l'été, lorsque la température dépasse 16 à 18°C. Un nouveau cycle sexuel commence en automne, mais à ce moment la température est redescendue au-dessous de 20° C. L'auteur suggère l'existence d'une température limite, située vers 20° C, au-dessus de laquelle les phénomènes de gamétogénèse seraient inhibés. Le stade de repos sexuel commencerait alors.

Outre la température, des facteurs tels que la salinité, la teneur en oxygène dissous dans l'eau, peuvent réguler ces principales activités physiologiques (Haouchine, 1995).

c) Nutrition.

Lubet (1959) in Marteil (1976) émet l'hypothèse d'une influence des variations quantitatives et qualitatives du phytoplancton sur le cycle sexuel des moules. Des animaux mis expérimentalement à jeûner voient en effet leur maturité sexuelle retardée et la quantité de gamètes qu'ils émettent diminuée, Il n'y a pas ensuite de restauration et d'accumulation de réserves.

En ce qui concerne l'aspect qualitatif, Lubet (1959) pense que, les apports importants d'éléments nouveaux dans l'alimentation des moules modifieraient leur métabolisme. Une des conséquences de cette modification serait l'instauration et la durée du stade de repos sexuel. Cette hypothèse reste toutefois à vérifier. (Marteil, 1976).

d) Action du système nerveux.

Outre les facteurs écologiques, d'autres causes ont une action sur la reproduction de la moule, En particulier, Lubet (1959) a montré que l'intégrité des ganglions cérébroïdes était indispensable pour que le cycle sexuel soit normal. Leur ablation entraîne des perturbations importantes. (Marteil, 1976)

4.5. Les différentes phases du développement larvaire de *Mytilus galloprovincialis* :

Lorsque les moules sont arrivés à maturité, les produits génitaux sont expulsés dans le milieu extérieur où a lieu la fécondation (Marteil, 1976). Les ovocytes femelles sont fertilisés par les spermatozoïdes des mâles (figure 5F). Après la fécondation une première division cellulaire a lieu. Ces divisions se poursuivent pour atteindre le stade multicellulaire blastula puis gastrula (figure 5) (Helm et al 2006).

Plus tard il se transforme en une larve mobile appelée **trochophore** qui présente une forme de toupie, pourvu d'un cil apical et une couronne ciliée lui permettant de se déplacer en tournant sur elle-même. (Helm et al, 2006).

La D véligère elle a la forme d'un D majuscule d'où son appellation de **larve Delle** présente une coquille avec deux valves reliées par une charnière ainsi qu'un velum, sorte de voile cilié qu'elle déploie hors de sa coquille lorsqu'elle nage et qui lui sert à capter sa nourriture (Auby.I ,Maurer.D, 2004).

L'umbo-véligère: un crochet, ou umbo, se forme sur la charnière de la coquille (Auby.I ,Maurer.D, 2004), elle présente des glandes digestives à deux lobes (Le Pennec, 1978 in Chebab.B, 1996).

La pédivéligère: une tache oculaire, improprement appelée .il et jouant un rôle sensoriel, apparaît au niveau de la première ébauche branchiale ; la larve est alors dite **oeillée**. A la fin de stade la larve est prête pour se fixer (Auby.I ,Maurer.D, 2004)

Les différentes phases du développement larvaire de la moule *Mytilus galloprovincialis* jusqu'à la fixation est représenté dans la figure 5

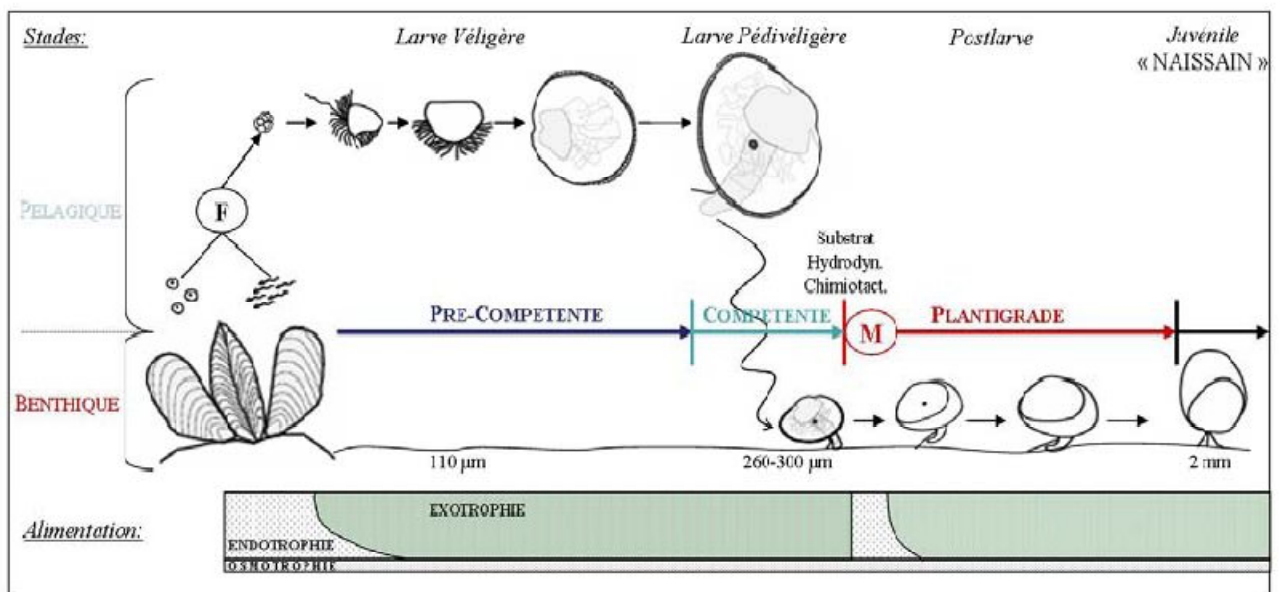


Figure 5: Phases larvaires et post-larvaires du cycle de vie de la moule (Toupoint, 2009)
F : fécondation, M : métamorphose.

4.6. Métamorphose et fixation :

La métamorphose est une période critique dans le développement des bivalves, durant laquelle l'animal passe de la vie pélagique nageuse à la vie benthique sédentaire (figure 5M),

des mortalités considérables peuvent se produire pendant cette phase aussi bien en milieu naturel qu'en éclosérie (Helm, et al, 2006).

Selon Bayne (1965) la métamorphose peut être retardée jusqu'à six semaines, si l'animal prêt à se métamorphoser ne rencontre pas aussitôt de substrat convenable, ce qui représente une augmentation considérable des chances de survie. Néanmoins, le velum commence à dégénérer, d'où perturbation des courants alimentaires et diminution du pouvoir nutritionnel. La larve devient incapable de se nourrir et la croissance est stoppée. Cette régression du velum entraîne aussi une diminution des facultés de nage : l'animal a de plus en plus tendance à ramper ; s'il ne trouve toujours pas de support, il est condamné à mourir. (Marteil, 1979).

4.7 Alimentation.

Les bivalves sont des filtreurs qui se nourrissent essentiellement de phytoplancton. D'autres sources d'alimentation peuvent être importantes telles que des particules fines de matières organiques inertes (détritus) associées aux bactéries et aussi la matière organique dissoute. (Helm et al, 2006).

Comme l'huître, la moule ingère la plupart des particules présentes dans le milieu qui l'entoure : diatomées, dinoflagellés, détritus organiques, bactéries, flagellés et protozoaires divers, spores, fragments d'algues, débris inorganiques, etc. (Marteil, 1976).

La moule utilise son appareil branchial comme un filtre. En effet le courant d'eau inhalé passe à travers la branchie qui joue le rôle de tamis et qui comporte des sillons garnis de cellules muqueuses qui agglomèrent les particules en suspension dans l'eau. Les micro particule consommables sont transportées jusqu'à la bouche, alors que les particules non consommables sont rejetées à l'extérieur (pseudofécés) (Boudjema et Ourari, 2005).

4.8. Croissance :

La croissance des moules dépend principalement de la richesse en éléments nutritifs du milieu dans lequel ils vivent et des possibilités qu'ils ont d'utiliser cette richesse. Divers facteurs tels la température, la salinité, le pH, la turbidité, le temps d'émersion, agissent sur le rythme de la filtration ou sa durée et par là modifient la quantité d'éléments ingérés. (Marteil, 1976).

La croissance peut varier dans de très fortes proportions avec l'environnement. Selon Mason (1972 in Marteil, 1976) les moules mesurent 75 à 90 mm au bout de 14 à 18 mois en Espagne, tandis qu'en Grande-Bretagne, il leur faut 2 ans et demi pour dépasser 60 mm. En France, les moules n'atteignent la taille marchande (40 mm) qu'en 2 ans et demi dans le Boulonnais (Brienne, 1955 in Marteil, 1976) tandis qu'en baie de l'Aiguillon, un an leur suffit pour être commercialisables.

4.9 Respiration :

Elle se fait au niveau des branchies et du manteau (Brienne, 1960 in Boukri et Cherifi, 2009).

Il existe une relation complexe entre la consommation de l'oxygène, le poids du corps, la ration alimentaire, la température et surtout le cycle de reproduction qui semble le plus déterminant, d'après Bernabé (1989), la moule consomme 0,39 mg /h/g.P.S en période de reproduction et 0,21 mg /h/g .P.S au repos sexuel.

4.10 Ecologie de l'espèce.

4.10.1 Habitat et répartition géographique.

Selon Lubet (1959), *Mytilus galloprovincialis* est dite lusitano-mauritanienne, elle est présente en Mer Noire, en Adriatique, en Méditerranée, sur les côtes du Portugal, les côtes atlantiques de l'Espagne, de France, en Manche occidentale, elle est récoltée aussi en Grande Bretagne (Lubet, 1973). Sur les côtes de l'atlantique Marocain, elle est présente à partir de la baie d'Agadir (Naciri, 1998). *Mytilus galloprovincialis* est présente aussi à L'Ouest de l'Afrique du Sud (Crant et Chery 1985, in Chebab, 1996), sur les côtes Japonaises (Hosomi, 1978 in Djediat, 1993), la nouvelle Zélande et la Californie (McDonald et Koehn, 1991 in Naciri, 1998). Les aires de répartitions sont reportées au niveau de figure 2 en rouge pour les régions où l'espèce est la plus abondante et en jaune pour les endroits de faible abondance et où la présence est peu probable (figure6).

Sur les côtes Algérienne elle cohabite avec l'espèce *Perna perna* et forme des bancs naturels, dans des zones assez agitées (Boukhroufa, 1987 in Bensam et Behloul, 2009).

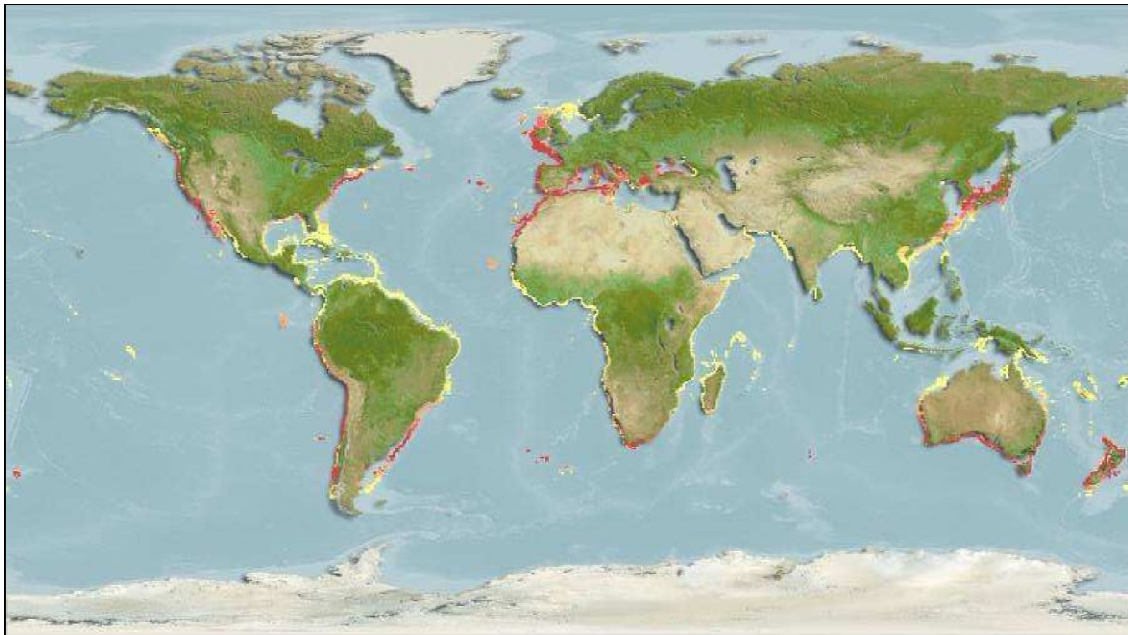
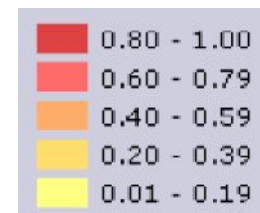


Figure 6. Répartition géographique de *Mytilus galloprovincialis*
(Lamarck, 1819) (Source : www.sealifebase.org)



Probabilité de présence

4.10.2 Répartition bathymétrique.

Fixée par son byssus sur des fonds très variés durs (rocheux graveleux) ou même meubles (sableux, vaseux), dans zone littorale et a faible profondeur, elle forme souvent des communautés denses (Poutiers, 1993 in Bensam et Behloul, 2009). Elle subit les changements extrêmes des conditions environnementales (température, salinité, nourriture, exposition a l'air. la limite de distribution de moule dans la zone intertidale serai principalement déterminé par la durée d'exposition a l'air et a l'importance de dessiccation auxquelles elle est soumise.

5. Les différents modes d'élevage de la moule *Mytilus galloprovincialis*.

5.1. La culture sur bouchots.

Un bouchot est une ligne de pieux plantés dans le sol (figure7). Les moules sont captées sur ceux qui sont situés le plus au large (bouchots à naissain) puis transportées, au fur et à mesure de leur croissance, sur les pieux plantés plus près de la côte (bouchots d'élevage) (Marteil, 1979).



Figure7 : principe de la culture sur bouchots (source : maptitecantine.canalblog.com)

5.2. La culture en suspension.

Le naissain est récolté sur des cordes de captage ou pêché sur des gisements naturels. Il est installé sur des cordes d'élevage qui pendent dans l'eau et sont constamment immergées. Il existe deux sortes d'installations : les installations fixes et les installations flottantes ou radeaux. Les installations fixes exigent des eaux peu profondes, ne dépassant pas 10 m, et une amplitude de marée faible. Aussi ne les trouve-t-on qu'en Méditerranée. Les installations flottantes, en revanche, ont l'avantage de pouvoir être employées indifféremment dans des zones où l'amplitude des marées est faible ou importante, mais, dans ce dernier cas, la profondeur doit être suffisamment grande pour que les cordes ne touchent jamais le fond, même aux basses mers de vives-eaux (Marteil, 1979).

5.3. La culture à plat.

Le naissain se fixe souvent en abondance dans des zones où la survie, la croissance et l'engraissement sont faibles. Les jeunes moules sont pêchées sur ces gisements naturels et transférées dans des endroits où les conditions du milieu sont plus favorables. Pour améliorer encore le rendement, on veille à ce que la densité des mollusques sur le terrain ne soit pas excessive, et les prédateurs sont contrôlés.

Chapitre deuxième

La culture des microalgues

Les micro-algues unicellulaires marines sont cultivées en éclosérie pour servir de nourriture aux coquillages d'intérêt commercial à différents stades de développement. Cole (1937, in Robert et Trintignac, 1997) fut le premier à démontrer que certains flagellés unicellulaires pouvaient servir de nourriture à des larves de bivalves. Aujourd'hui, l'apport de microalgues, isolées du plancton marin et mises en culture contrôlée, constitue l'aliment le plus courant pour les bivalves en élevage à tous les stades de développement. (Muller-Feuga, 1997)

1. Matériel et méthodes.

1.1. Souches de microalgues utilisées.

Selon Brown (2002 in E. Olivo, 2007) la valeur nutritionnelle et la bonne assimilation des microalgues par l'animal sont liées à plusieurs facteurs : la taille, la forme, la digestibilité (liée à la structure et à la composition des parois cellulaires), et la composition biochimique (acides gras, enzymes, toxine si présente)

Pour cette étude, des espèces de microalgues sont venues d'un laboratoire de recherche espagnole dans le cadre de coopération Algéro-espagnole (ITC – Las Palmas – Spain): les différentes espèces sont les Chrysophycées *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana*, les Chlorophycées *Tetraselmis suecica*, les Diatomées *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricornerutum*.

Trois espèces seront données comme exemple: *Tetraselmis suecica*, *Phaeodactylum tricornerutum* et *Pavlova lutheri*.

a) *Tetraselmis suecica*:

C'est une espèce qui se caractérise par des cellules solitaires libres, mobiles, comprimées latéralement, leur base est arrondie, possédant quatre flagelles de même taille, la paroi est lisse rigide, pyrénocèle bien visible (Bourrelly, 1990 in Bechagra 1996).

Présentation systématique de *Tétracelmis suecica* (Kylin in Bechagra 1996)

Embranchement	Chlorophycophyte
Classe	Parasinophycée
Sous classe	Chlorophycidae
Ordre	Pyramimonadale
Famille	Pyramimonacée
Genre	Tetrasemis
Espèce	<i>Tetraselmis Suecica</i>

b) *Phaeodactylum tricornutum*.(Bohlin 1897).

C'est une diatomée unicellulaire, avec une trochophore pariétale à la région centrale. Deux formes typiques de cellules, (a) ovale peuvent être motile avec des mouvements lents ou immobile, (b) fusiformes (Lewin.J. C.1958).

Présentation systématique de *Phaeodactylum tricornutum*(Lewin.J. C.1958).

Embranchement	Chrysophyta
Classe	Bacillariophyceae
Ordre	Bacillariales (Hendey, 1937)
Sous ordre	Phaeodactylinae
Famille	Phaeodactylaceae
Genre	Phaeodactylum (Bohlin, 1897)
Espèce	<i>Phaeodactylum. tricornutum</i> .

c) *Pavlova lutheri***Présentation systématique de *Pavlova lutheri* (Matt et Meghan (1)).**

Embranchement	Haptophyta
Classe	Pavlovophyceae
Ordre	Pavloales
Famille	Pavlovaceae
Genre	<i>Pavlova</i>
espèce	<i>Pavlova lutheri</i>

Tableau I: composition en lipides, taille et concentrations maximales de trois espèces de microalgues utilisées. (M. Nedelec, 2009)

Espèces	Taille	Concentration maximale en culture 10^6 cellule.ml ⁻¹	Lipide %
<i>Tétrahelminis suecica</i>	8-10	2	6
<i>Pavlova lutheri</i>	2-3	17	21
<i>Phaéodactylum tricorutum</i>	8	8-15	12

1.2. Salle de culture.

Le CNRDPA dispose d'une salle d'algues ne servant qu'aux cultures phytoplanctoniques. L'élevage d'organismes animaux y est exclu pour des raisons d'hygiène.

1.2.1. Conditions générales de culture.

a) Température:

La régulation thermique est assurée par une climatisation suffisamment puissante pour palier le dégagement thermique des rampes d'éclairage et maintenir une température comprise entre 18 et 20°C, température moyenne qui satisfait les exigences des espèces cultivées.

b) Eclairage artificiel:

Les cultures sont maintenues sous un éclairage de tubes fluorescents de 40 et 60 watts placés verticalement. Les tubes utilisés sont de type "blanc industrie" ou "Warm White".

Selon Blancheton.A (1986) L'intensité lumineuse préférentielle pour l'ensemble des espèces cultivées varie de 3.500 à 5.000 lux. Pour obtenir une production maximale l'énergie lumineuse est fournie 24 heures sur 24.

c) Eau de mer- eau douce:

La méthode de culture proposée nécessite l'utilisation de l'eau de mer et de l'eau douce.

L'eau douce est principalement utilisée pour l'ajustement de la salinité de l'eau de mer, qui devra être stérilisée avant l'utilisation.

d) Aération et gaz carbonique:

L'air apporte aux algues l'oxygène et le gaz carbonique et permet l'agitation du milieu pour le maintien des algues en suspension.

Un apport en CO_2 est indispensable pour obtenir des concentrations importantes. Il permet d'une part le maintien du pH. (Mis en solution il va réagir avec l'eau pour donner de l'acide carbonique puis s'ioniser pour donner du bicarbonate qui stabilisera le pH). D'autre part il constitue une source de carbone pour les algues.

1.3. Préparation de milieu de culture.

Différents milieu de culture peuvent être utilisés pour la culture des micros algues, le milieu de Walnes utilisée pour la culture des micros algues en eau de mer naturelle et artificielle le milieu Conway pour l'enrichissement de l'eau de mer naturelle et le milieu F/2 de Provasoli, pour la culture en eau de mer naturelle (voir annexe02)

Le milieu de culture utilisé dans ce travail est le F/2 modifié, les étapes de préparation sont décrites dans le tableau ci-dessous:

Solution I:

Nitrate de sodium (NaNO_3)	37,5 g
Qsp 500 ml d'eau déminéralisée	

Solution II :

Di-hydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4)	2,5 g
Qsp 500 ml litres d'eau déminéralisée	

Solution silicatée (pour les diatomées) :

Métasilicate de sodium ($\text{Na}_2\text{SiO}_3, 5\text{H}_2\text{O}$)	1,5 g
Qsp 500 ml d'eau déminéralisée	

Solution métallique:

Composition pour 1 litre :

Chlorure de fer hexahydraté ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$)	3,15 g
Acide Ethylènediamine tetraacétique de sodium (Na_2EDTA)	4,36 g
Sulfate de cuivre pentahydraté ($\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$)	1 ml d'une solution à 9,8 g/L
Sulfate de zinc heptahydraté ($\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$)	1 ml d'une solution à 22 g/L
Chlorure de cobalt hexahydraté ($\text{CoSO}_4, 6\text{H}_2\text{O}$)	1 ml d'une solution à 10 g/L
Chlorure de manganèse tetrahydraté ($\text{MnCl}_2, 4\text{H}_2\text{O}$)	1 ml d'une solution à 180 g/L

Qsp 1 litre d'eau déminéralisée

Utilisation :

Ce milieu est utilisé pour la culture des micro-algues en eau de mer naturelle.

Pour 1 litre d'eau de mer :

1 ml de solution I

1 ml de solution II

1 ml de solution métallique

1 ml de solution silicatée pour les diatomées



Figure 8: préparation du milieu F/2

Durant l'inoculation des cultures souches le milieu F/2 utilisé est acheté complet avec tous les constituants, le volume étant insuffisant pour les cultures de grands volumes, alors nous avons utilisé un milieu préparé au laboratoire (F/2 modifié) avec tous les ingrédients excepté du Molybdate de sodium dihydraté ($\text{Na}_2\text{Mo}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) et de la solution vitaminique indisponibles lors de la préparation (figure8).

1.4. Méthodes de cultures des micros algues.

Les écloséries optent soit pour une culture intensive close avec éclairage artificiel installé dans des locaux séparés des autres installations ou alors en plein air, quand il s'agit d'une culture extensive en bacs en grands volumes ou en étangs utilisant la lumière naturelle.

Pour cette étude les techniques intensives sont utilisées car elles sont satisfaisantes en termes de fiabilité et de productivité, mais sont coûteuses en termes d'équipement et de main d'œuvre, Un schéma du processus de culture phytoplanctonique est présenté dans la (figure9).

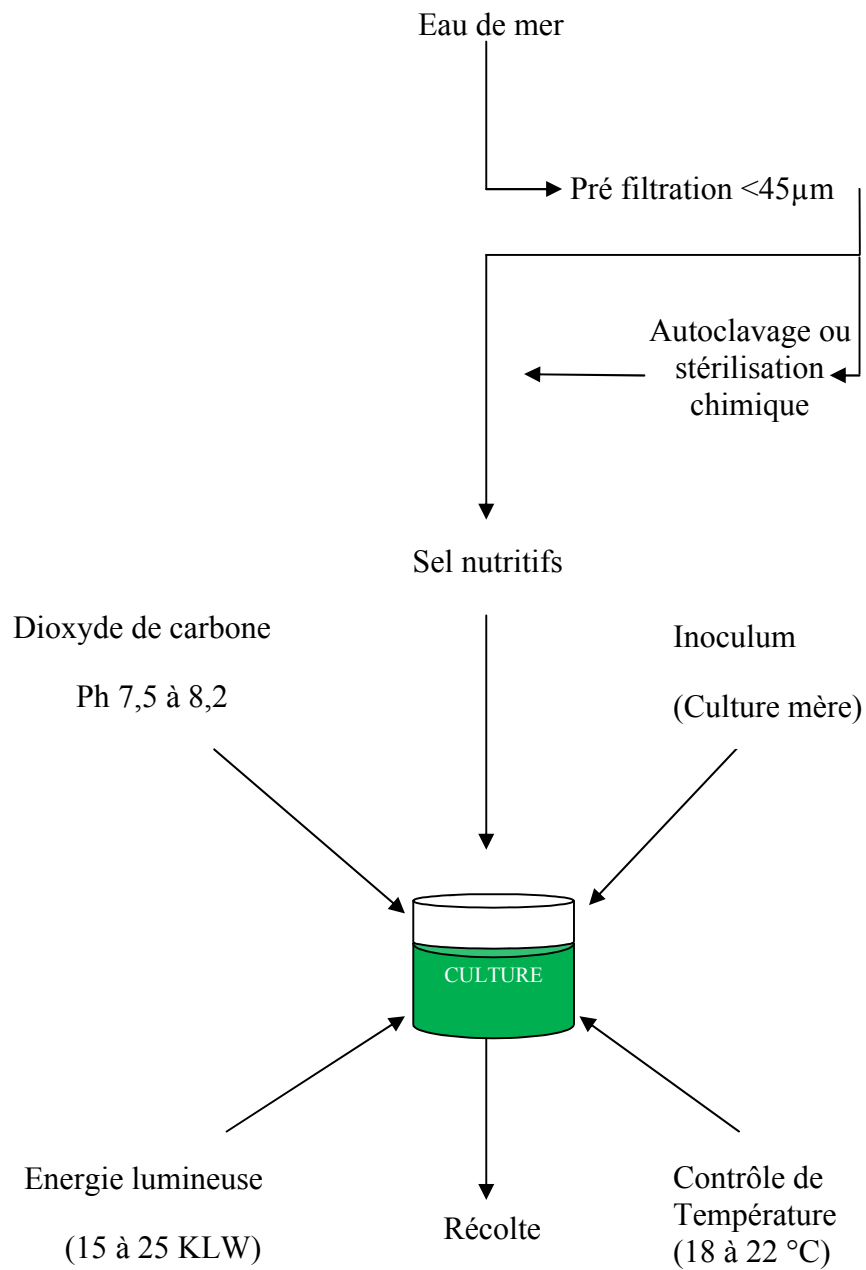


Figure 9: Processus de culture algale montrant les différents intrants nécessaires. Le besoin ou non d'un traitement secondaire d'eau de mer, dépend de l'état de filtration initiale de l'eau

1.4.1. Les cultures souches et mères.

1.4.1.1 Cultures souches.

Ce sont des algues monospécifiques utilisées pour fournir des cultures mères. Comme elles sont précieuses, ces cultures sont maintenues dans des milieux de culture spécifiques, (le milieu de culture d'Erdschreiber, le milieu F/2, des géloses d'agar enrichie en nutriment en tubes à essai inclinés) (Helm et al, 2006). Pour cet étude dans des géloses d'agar enrichie en nutriment dans des boites de pétri.

Elles doivent être entretenues avec un grand soin, alors un effort constant doit être déployé pour minimiser le risque de contamination des souches et des cultures mères par des organismes compétiteurs, des procédures de stérilisation doivent être suivies pour éviter toute contamination, et un repiquage régulier permet de garder des cellules jeunes avec un fort potentiel de croissance.

1.4.1.2. Culture mère.

Une lignée de cultures mères est préparée à partir des cultures souches des espèces souhaitées. Ces cultures sont spécifiquement cultivées pour fournir un inoculum destiné à démarrer de grands volumes de cultures nécessaires à la production de nourriture

- **Préparation des cultures mères.**

Les inocula ont maintenant une couleur foncée indiquant la croissance des microalgues. Une première dilution d'un dixième aura lieu en versant les inocula dans des erlenmeyer de 500ml qui contiennent 250 ml d'eau de mer enrichie (milieu de culture) et refermés ensuite avec le papier aluminium (figure10). Le nom des espèces, ainsi que la date du transfert, doivent être marqués sur les tubes au feutre indélébile. Les souches mère sont obtenues et gardées auprès des lampes fluorescentes dans la salle de culture à une température de 18 à 22°C.

Avant d'être utilisées, les cultures mères sont maintenues selon des périodes variables. Dans le cas des diatomées qui ont un temps de division court, cette période est de 3 à 5 jours, alors que pour la majorité des flagellés, elle est de 7 à 14 jours (M.M. Helm et al, 2006).

Quand les cultures mères sont prêtes elles sont transférées dans des conditions stériles, comme décrit antérieurement. Selon les espèces et la densité des cultures, 20 à 50 ml sont

transférés dans 250 ml de culture fraîche pour le maintien de la lignée des cultures mères. Le reste est utilisé comme inoculum pour des cultures de plus grands volumes (jusqu'à 25 litres).

- **Méthode d'inoculation et repiquage.**

Les différentes étapes des procédés conduisant aux cultures de production sont présentées sous forme d'exemple de culture de *Tetraselmis suecica* dans la (figure 10).

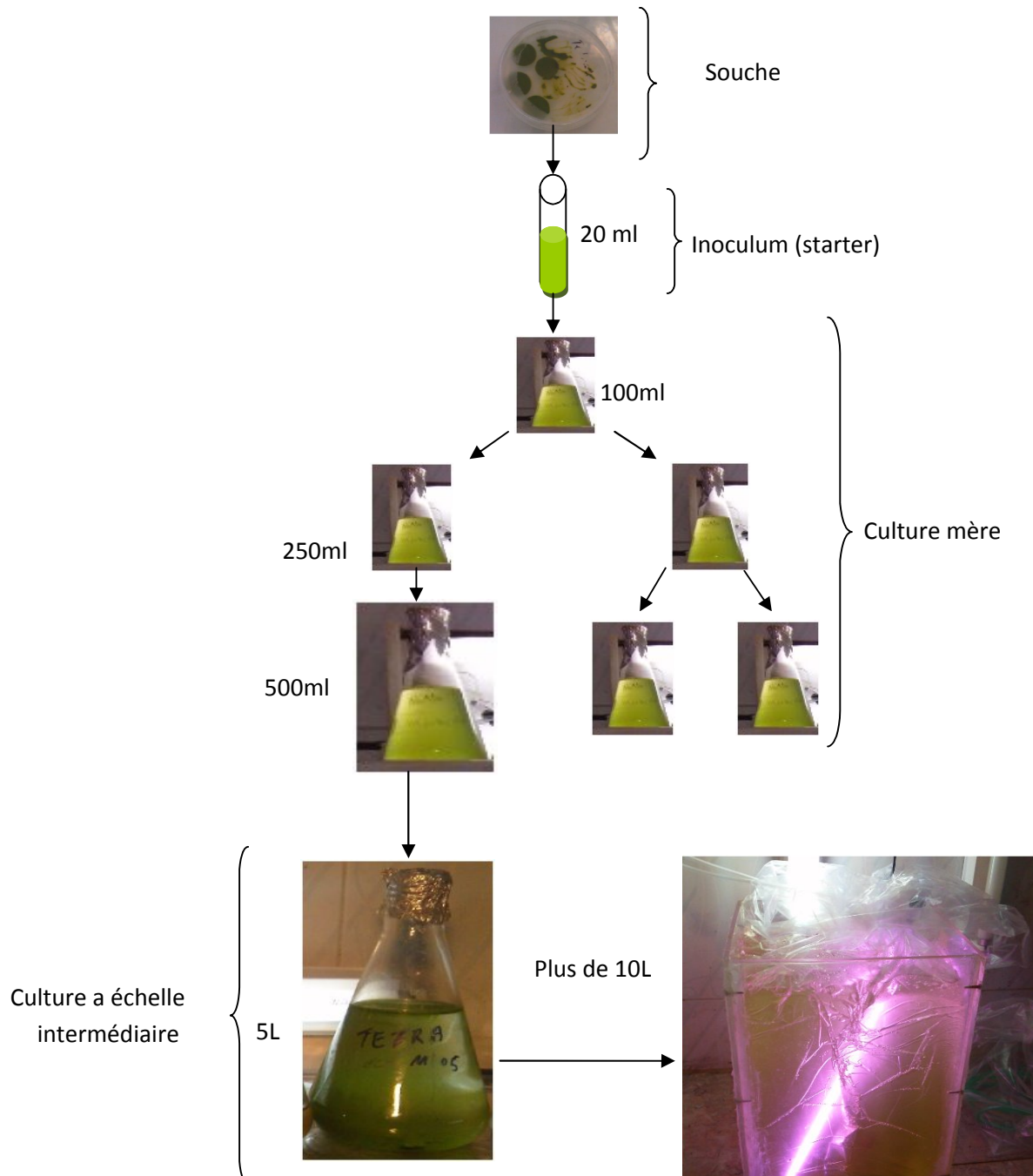


Figure 10: étapes de production algale.

Les souches sont maintenues séparément sous des conditions contrôlées de lumière et de température dans des boîtes de pétrie, et sont seulement utilisées pour inoculer les souches mères quand c'est nécessaire (voir annexe). Elles ne sont ni aérées ni alimentées en dioxyde de carbone.

Les souches mères (100 ml à 1 litre) sont cultivées rapidement pendant 7 à 14 jours à des températures et intensités lumineuses élevées avec un apport d'air enrichi en dioxyde de carbone à partir des volumes de 500 ml. Quand la culture est prête, une aliquote est utilisée pour redémarrer une culture et la fraction principale permet d'initier une culture de volume intermédiaire. Les cultures de volume intermédiaire (variant probablement entre 4 et 20 litres) peuvent être utilisées aussi bien pour nourrir les larves que pour commencer les cultures en grand volume. Les cultures en grand volume sont généralement de 50 litres minimum et sont souvent bien plus importants.

1.4.2. Cultures à échelle intermédiaire

Le but de culture est l'obtention de petits volumes d'algues destinés à la nourriture des larves.

Deux types de culture peuvent être utilisés en «batch» ou semi-continu (Helm.M et al, 2006):

Les cultures en batch : consistent à inoculer du milieu de culture avec l'espèce souhaitée. Les microalgues croissent rapidement jusqu'à ce que l'augmentation de la densité cellulaire commence à être inhibée par le manque de lumière due à une moins bonne pénétration dans la culture. Cette dernière est alors entièrement récoltée, le récipient lavé et stérilisé pour y réceptionner une nouvelle culture.

La méthode semi-continue : repose sur la même gestion des cultures mères mais au lieu de les récolter intégralement quand elles ont poussé, elles ne sont que partiellement récoltées avant leur limitation par la lumière. Le volume récolté est aussitôt remplacé par un même volume d'eau enrichi avec un milieu de culture fraîchement préparé. Le même processus est répété 2 à 3 jours plus tard et la durée de vie de la culture est ainsi prolongée. D'après Helm M.M et al (2006) certaines espèces tolérantes ou euryèces, par exemple, *Tetraselmis suecica*, les cultures peuvent être maintenues pendant 3 mois ou plus avec une récolte de 25 à 50 pour cent du volume de la culture 3 fois par semaine.

La culture en batch est généralement utilisée pour les espèces délicates et les diatomées à croissance rapide, alors que la culture semi-continue est utilisée principalement pour les espèces tolérantes de flagellés.

1.5. Croissance de microalgue.

Les étapes de la croissance d'une culture en batch, sont identiques à celles des bactéries et on peut distinguer quatre phases essentielles (figure 11) :

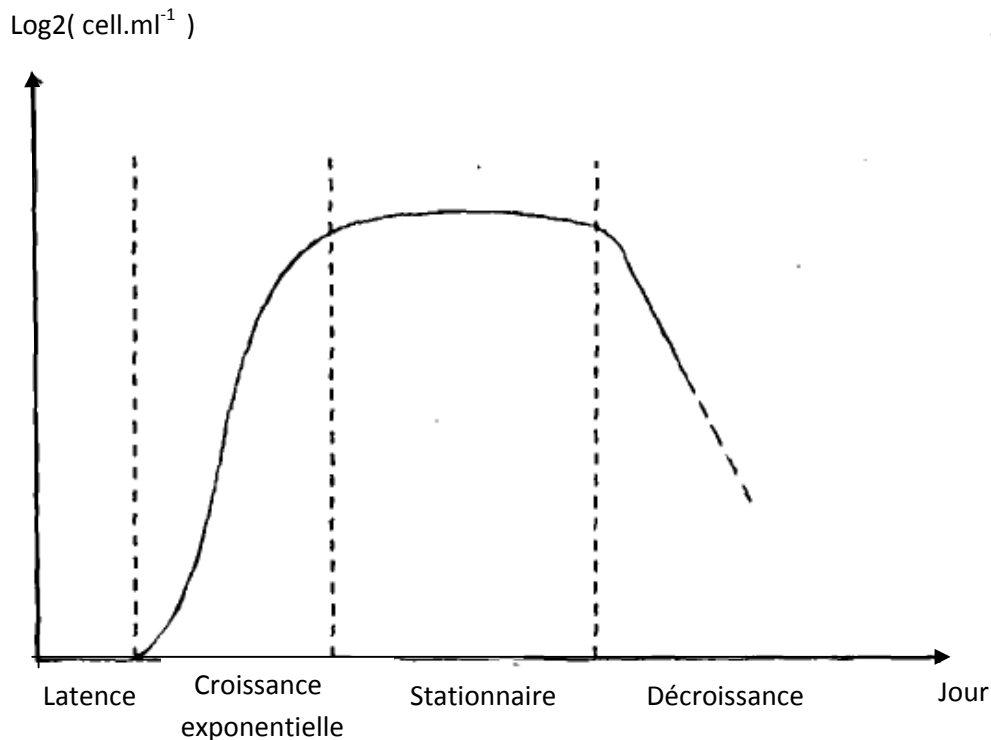


Figure 11 : courbe de croissance des microalgues culture en batch montrant les différentes phases de culture (A.Blancheton, 1986)

La phase de latence, durant laquelle le nombre de cellules diminue ou reste stationnaire. Ceci est dû au fait que toutes les cellules inoculées ne sont pas viables et que les cellules viables ne sont pas en condition optimale pour se diviser. La phase de latence est d'autant plus longue que l'inoculum est âgé et que sa taille est petite. Cette phase est plus courte quand la culture est repiquée dans la première partie de la phase exponentielle (Spencer, 1954 in Hadjadji, 2002).

La phase de croissance exponentielle, Les cellules se divisent activement et utilisent tous les nutriments mis à leur disposition. Cette phase ne s'arrête que lorsque le facteur limitant a totalement été utilisé. C'est pendant cette phase que l'on utilise une culture (Guéret.M, 2004)

La phase stationnaire, une phase où le nombre de cellules ne varie pratiquement pas ; il peut y avoir une modification chimique du contenu cellulaire par suite du vieillissement. Cette phase peut durer plusieurs semaines s'il n'y a pas de contamination (Guéret.M, 2004)

Une phase de mortalité cellulaire, Pendant cette phase, les cellules ne se divisent plus et meurent, entraînant une dégradation de plus en plus importante des conditions de culture (pH) (Guéret.M, 2004).

1.5.1. Suivi de densités des cultures.

La croissance d'une culture est généralement exprimée comme l'augmentation d'une biomasse, d'un nombre de cellule ou d'un taux de chlorophylle par unité de temps (Dauta, 1982 in Bechagri, 1996).

Pour le suivi journalier de la croissance des cultures, plusieurs méthodes peuvent être regroupées en :

- méthodes directes : comptage, poids sec et volume cellulaire.
- Méthodes indirectes : densité optiques, pigments, protéines, ATP, carbone, azote...etc.

Un spectrophotomètre ou fluorimètre mesure la chlorophylle α que contient la culture algale et cette méthode permet d'obtenir une approximation rapide de la densité cellulaire (Helm et al, 2006).

1.5.2. Comptage cellulaire.

Différentes cellules de comptage de profondeur connue et dont le quadrillage défini donne un volume déterminé, peuvent être utilisées (voir annexe04 tableau).

Durant ce travail des comptages de cellules phytoplanctoniques réguliers ont été effectués avec la cellule malassez (figure12).

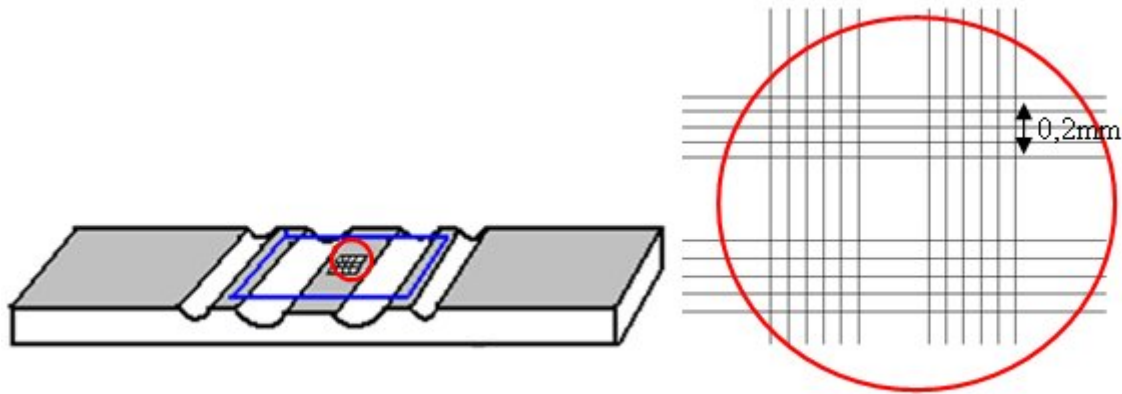


figure12: cellule malassez.

Technique de comptage.

Une première observation au microscope a été effectuée à l'objectif (10X) pour la mise au point des cadres, mais le comptage a été effectué à grossissement (40X). À l'aide d'un compteur, le nombre de cellule par case est déterminé ce dernier est converti en nombre moyen de cellules par unité de volume. Le détail de technique est démontré en (anexe04)

Estimation de taille des espèces

Des photos ont été prises périodiquement pour être mesuré à l'aide du logiciel "Tsview" version 6.1.3.9, une cinquantaine de cellule ont été mesuré pour avoir une longueur moyenne.

2. Résultats

2.1. Suivi de la culture de *Tétraelmis suecica* :

Les cellules de *Tétraelmis suecica* ont une forme plus ou moins ovale de longueur moyenne de $15,58 \mu\text{m} \pm 0,56$ (figure13)

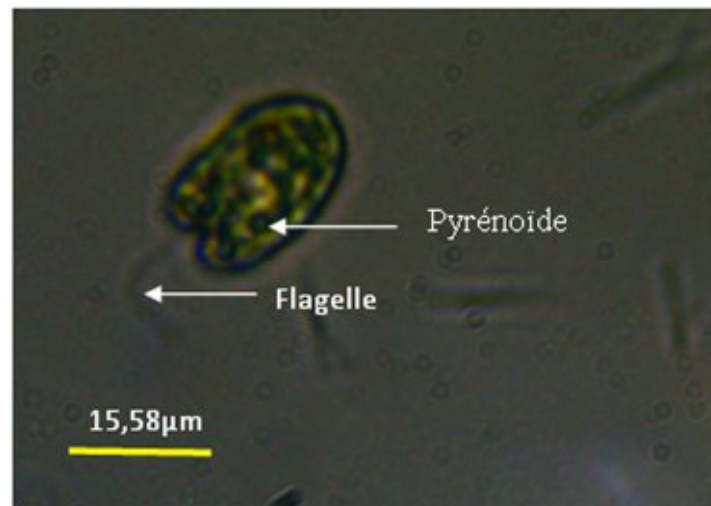


Figure13: *Tétraelmis suecica* (X100)

Production

Le volume produit durant 60 jours est estimé à 55 litres repartis sur différents volumes de cultures, variant de 500ml jusqu'au plus grand volume de culture dans un sac de capacité de 25 litres.

Selon le tableau2 qui est illustré par le graphe (figure14), le développement *Tétraelmis suecica* dans le milieu F/2 révèle une croissance rapide de 14 jours passant d'une concentration de 420.10^3 cell/ml à une concentration maximale de 1096.10^3 cell/ml avec un taux de croissance journalier de $0,068 \text{ J}^{-1}$.

Une phase stationnaire de 03 jours s'installe, suivie d'une phase de décroissance de la concentration cellulaire pendant le reste de temps de la culture.

Tableau II: variation de la concentration cellulaire de *Tetraselmis suecica* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log_2 (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 Provasoli.

Jour	Nombre de cell/ml.10 ³
1	420
2	480
5	684
7	696
8	784
9	848
13	900
14	980
15	1096
17	1074
29	1074
20	1046
21	986
22	960

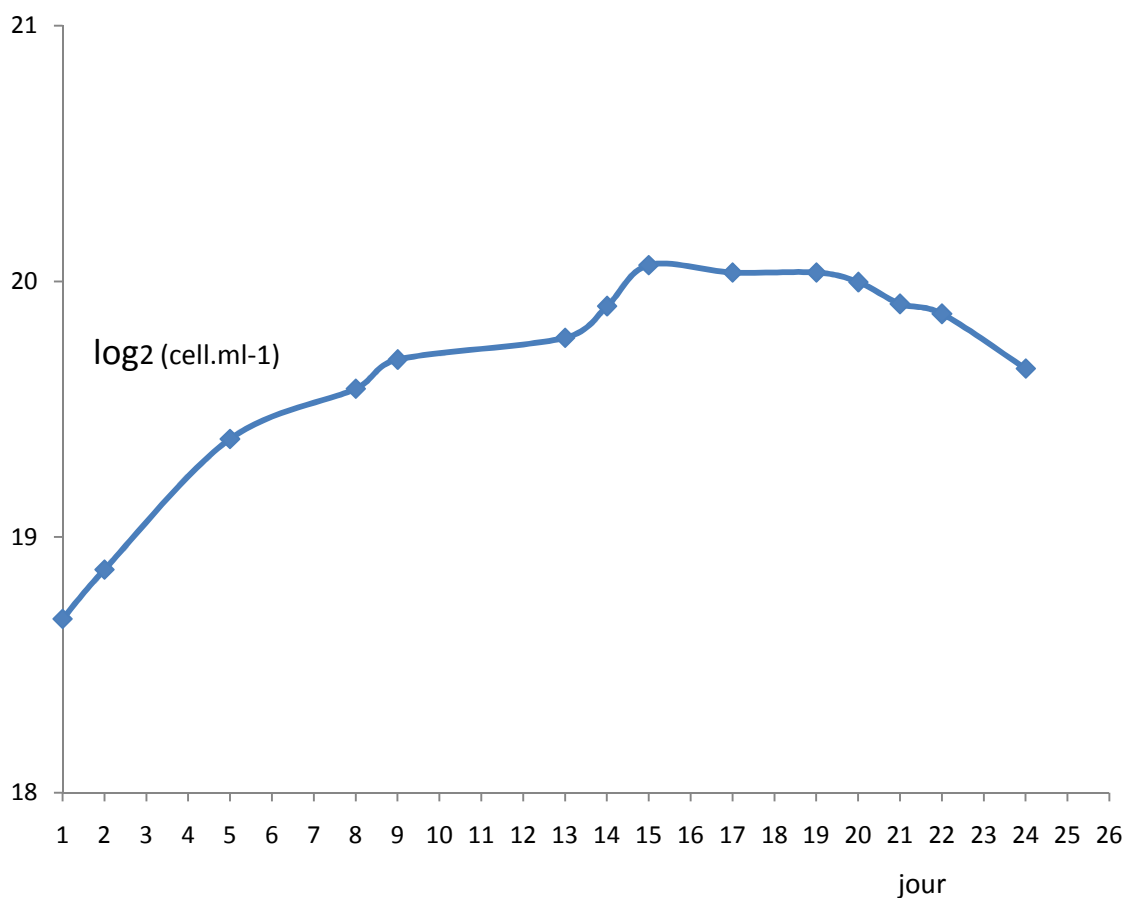


Figure 14: variation de concentration de *Tetraselmis suecica* dans le milieu F/2 Provasoli modifié en fonction de temps exprimée en Log_2 (nombre de cellule/ml)

(Voir annexe05 tableau II).

2.2. Suivi de la culture de *Phaeodactylum tricornerutum* :

Les cellules de *Phaeodactylum tricornerutum* sont fusiformes de longueur moyenne de $29,15 \mu\text{m} \pm 1,42$ (figure15)

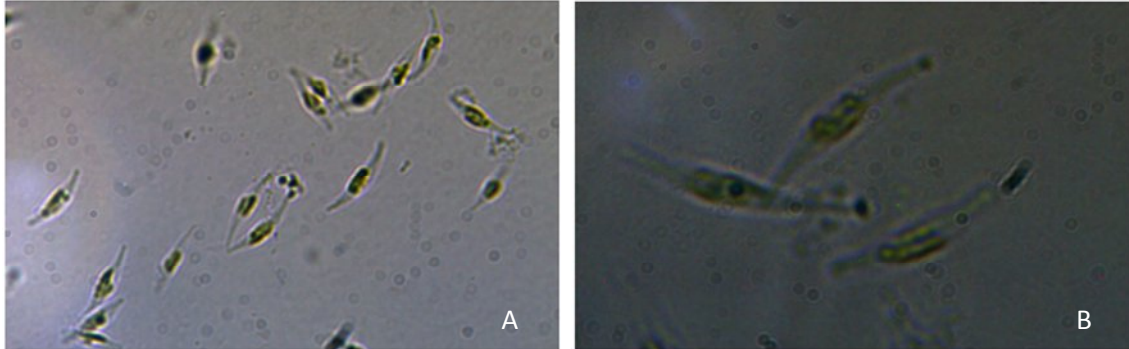


Figure15: *Phaeodactylum tricornerutum* A (X40) B(X100)

Production

La quantité de *Phaeodactylum tricornerutum* produite est de 12 litres pour une période de 30 jours, la couleur de la culture était brune foncée, mais elle a devenue claire dans une durée 3 jours (figure16)

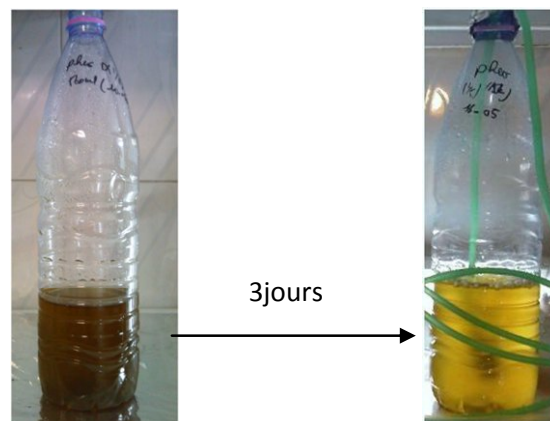


Figure16: chute de densité cellulaire de *Phaeodactylum tricornerutum*.

Le graphe (figure17) montre que *Phaeodactylum tricornerutum* passe rapidement de la concentration de 432.10^3 cell/ml à $1158.10^3 \text{ cell/ml}$ au bout des trois premiers jours, suivie d'une phase de croissance lente ayant la même durée de temps (03 jours) qui mène à une concentration de $1540.10^3 \text{ cell/ml}$.

Après le 7^{ème} jour, le développement s'accélère de nouveau et arrive à une concentration maximale de $9800 \cdot 10^3$ cell/ml jusqu'au 10^{ème} jour avec un taux de croissance de 0,346. Puis une phase de chute de la concentration cellulaire est remarquée à partir du 10^{ème} jour.

Tableau III: variation de la concentration cellulaire de *Phaeodactylum tricornutum* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log_2 (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 Provasoli.

jour	Nombre de cell/ml. 10^3
1	432
2	532
3	842
4	1158
7	1540
9	5650
10	9800
11	8300
14	2700

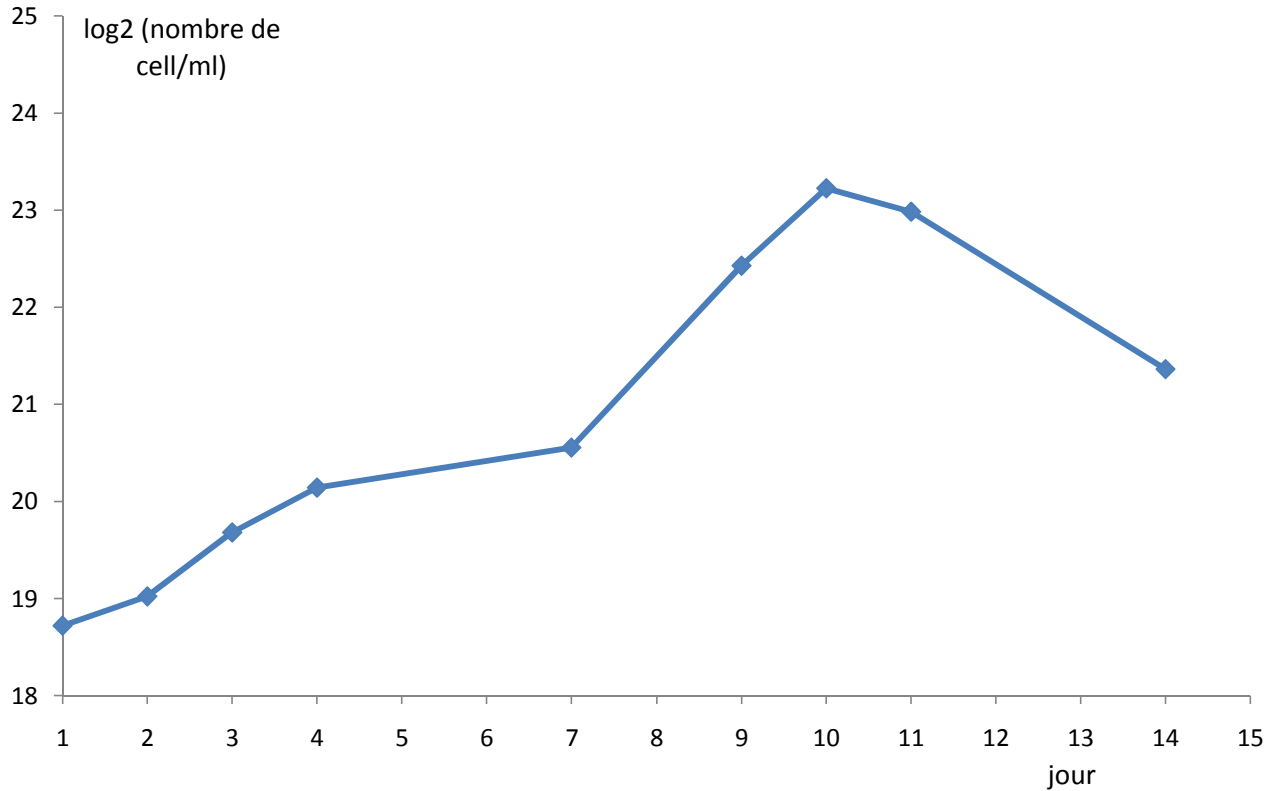


Figure17: croissance de *Phaeodactylum tricornutum* dans le milieu F/2 PROVASOLI modifié exprimée en Log_2 (nombre de cellule/ml)(voir annexe05 tableau III).

2.3. Culture de *Pavlova lutheri* :

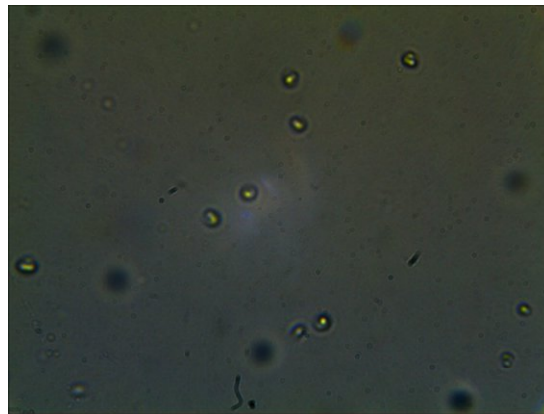


Figure 18: *Pavlova lutheri* (X40)

La quantité de *pavlova lutheri* est estimée à 12 litres pour une durée de 25 jours

La courbe de croissance *P.lutheri* (figure19) montre une phase de croissance exponentielle plus au moins régulière pendant les 21 premiers jours jusqu'à la concentration cellulaire 1584. TC = 0,21 g/l/jour

Tableau IV : variation de la concentration cellulaire de *Pavlova lutheri* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log_2 (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 PROVASOLI modifié

jour	Nombre 10^3 cell/ml.
01	2114
04	2864
06	3392
07	4364
08	4988
11	5300
12	6244
13	6615
14	7112
15	7880
16	8334
18	9400
19	9730
21	12248
22	12800
25	15840
27	16920

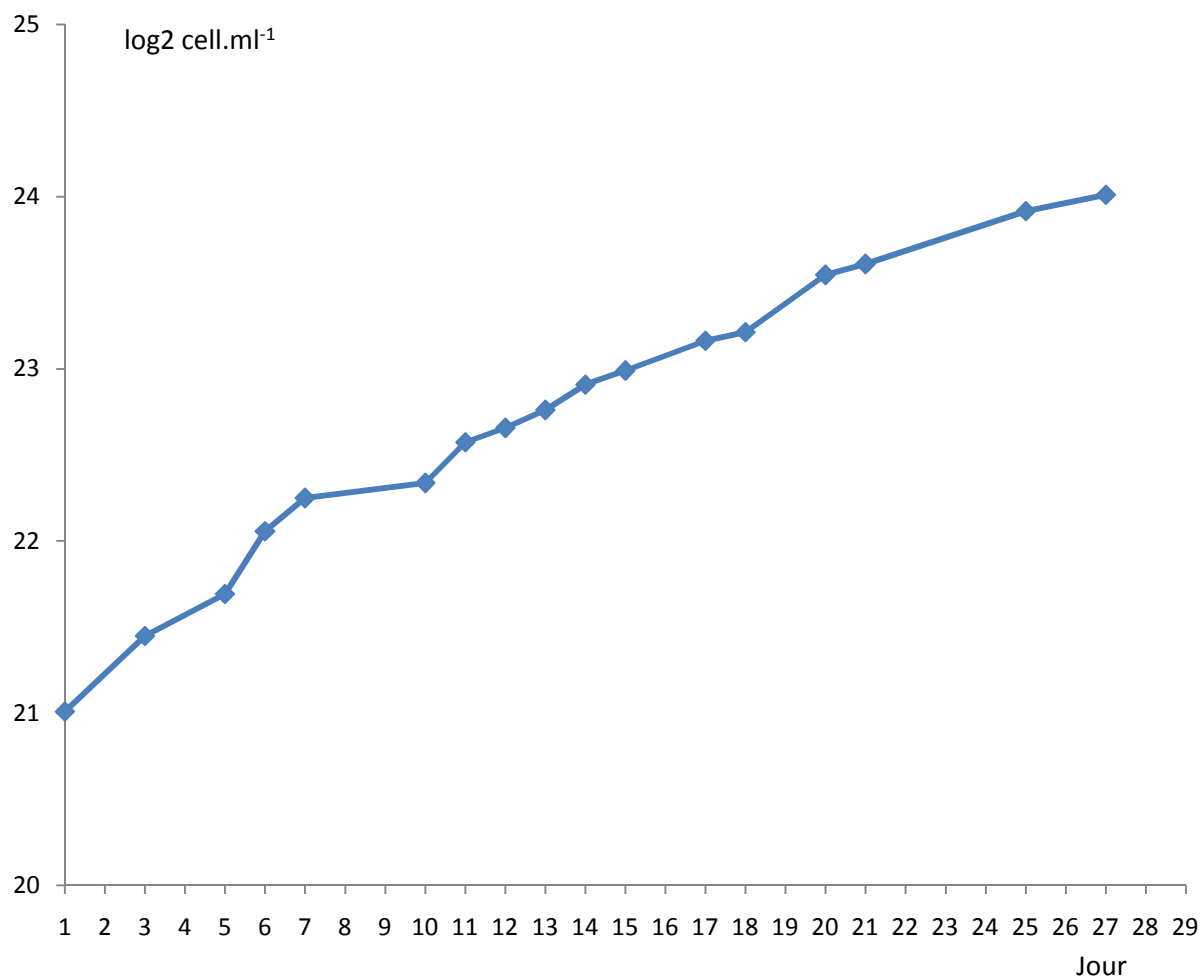


Figure 19 : croissance de *Pavlova lutheri* dans le milieu F/2 PROVASOLI modifié exprimée en Log_2 (nombre de cellule/ml) (voir annexe 05 tableau IV).

3. Discussion

Tétraselmis suecica

La concentration cellulaire pour *Tétraselmis suecica* a atteint sa valeur maximale 17 jour après repiquage $1096 \times 10^6 \text{ cellule.L}^{-1}$ ou $0,13 \text{ g.L}^{-1}$ cultivée en eau de mer naturelle et une salinité ajusté à 30 pour mille enrichie par le milieu F/2 modifié, une valeur faible comparé au résultat obtenu par Azma et all (2010) où la concentration maximale obtenu est de 7,4 g/l dans le milieu de Walne et qui est deux fois supérieur au résultat obtenu.

Pavlova lutherii

Au cours de ce travail la phase exponentielle a duré plus de 27 jours pour atteindre une concentration de $169,2 \times 10^8$ cellule/l avec un taux de croissance de 0,21 g/L/jour confirmé par E. ponis et all (2008) qui a obtenus une production journalière de 0,4 g/L/jour en culture semi continue. R. Robert et his.P (1987) a signalé une phase exponentielle de durée de 12 jours pour *Pavlova lutheri* au système de culture en Batch le milieu utilisé est Conway. La légère différence peut être expliquée par l'enrichissement de l'eau de mer avec deux milieux différents

Phaeodactylum tricornutum

La culture de *Phaeodactylum tricornutum* n'a duré que 14 jours en effet une chute de densité cellulaire a été observée le 11ème jour après dilution (tableau III).

Une phase exponentielle n'a pas atteint une valeur maximale une chute de la densité a été enregistré. L'observation au microscope a permit de déterminer une contamination par des amibes, la culture a été perdu au bout de 3 jour

La contamination pourrait être dû aux différentes manipulations; les prélèvements pour le comptage, les dilutions ou par les diffuseurs d'air

Comparaison entre espèces.

Phaeodactylum tricornutum présente un meilleur taux de division. Des concentrations supérieures à $2700.10^3 \text{ cellules.ml}^{-1}$ sont obtenues en 14 jours de culture. Si ses performances de croissance sont intéressantes, cette souche est cependant assez fragile et exposée aux risques de contamination.

Pavlova luteri se caractérise par un meilleur taux de croissance $508.86.10^6$ cellule. $L^{-1}J^{-1}$ et un taux de division cellulaire intermédiaire, cependant la durée de la phase exponentielle est plus ou moins longue.

Tétraselmis suecica avec une densité cellulaire, un taux de croissance et un taux de division cellulaire relativement faibles comparée aux autres espèces mais elles ne sont pas significatives, compte tenu de son volume cellulaire et son poids organique elle est cependant caractérisé par une durée de phase exponentielle courte (14 jour).

Tableau V : comparaison entres les différentes espèces de microalgue cultivées

	Densité maximale obtenue (cell. 10^3 .ml ⁻¹)	Taux de croissance (10^6 cell.L ⁻¹ .jour ⁻¹)	Taux de division cellulaire	Durée de la phase exponentielle (Jour)
<i>Tétraselmis suecica</i>	1096	48,29	0,068	14
<i>Pavlova luterii</i>	16920	508,86	0,086	>22
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	2700	174,46	0,14	>14

Chapitre troisième

L'élevage larvaire

1. matériels et méthodes.

1.1. Acquisition de géniteurs.

Pour cette étude, les géniteurs de la moule *Mytilus galloprovincialis* d'un poids moyen de 3,76 g, d'une longueur moyenne de 33,36 mm, une largeur moyenne de 18,26 mm et d'une épaisseur moyenne de 12,72, ont été récolté du milieu naturel au niveau de la moulière du bateau cassé à fort de l'eau (annexes06, tableau1).

1.2. Induction de la ponte :

Différents stimuli peuvent être appliqués pour induire la ponte; les plus performants sont ceux qui sont naturels et minimisent le stress :

La ponte par scarification consiste à prendre un géniteur mature, l'ouvrir doucement pour ne pas l'abimer et couper le muscle adducteur adhérent à la valve supérieure. Une fois la valve supérieure enlevée, il faut prendre une lame de rasoir et lacérer les gonades, puis à l'aide d'un béccher rempli d'eau de mer filtrée on verse doucement sur les gonades lacérées ; l'eau entrainera les produits génitaux qu'il faut alors recueillir dans un autre récipient. Une fois cette opération terminée, on observe au microscope pour déterminer la nature du produit, ovules ou spermatozoides. La détermination ainsi faite, on sépare les produits génitaux males et femelles dans deux récipients différents (Bitant et al, 1979 in Boudjamaa et Ourari, 2005).

Dans le cas de la ponte par stimulation mécanique la ponte s'obtient en piquant le muscle adducteur. Ces géniteurs doivent d'ordinaire réagir à la stimulation on libérant les gamètes après une période variant de quelques minutes à une heure. (Benko, 1973 in Bensam et Behloul, 2009).

Le stimulus chimique consiste à injecter 2ml de KCl a 0.5 normal dans le manteau de chaque une des moules, les géniteurs sont laisser hors de l'eau durant une heure avant d'être transférer dans des récipients contenant l'eau de mer filtrée stérilisée (Thomas H.G et all, 2009)

La méthode la plus largement utilisée pour les espèces ovipares est l'induction de la ponte par choc thermique. En règle générale, si les géniteurs ne répondent pas au stimulus thermique durant une période de temps raisonnable, les gamètes qu'ils portent ne sont probablement pas complètement matures.(Helm et al, 2006).

En ce qui concerne cette étude, la méthode se basant sur les stimuli par choc thermique a été adoptée. Les géniteurs sont placés dans des récipients en plastique contenant une eau de mer filtrée, stérilisée, l'ensemble est placé dans un premier bain d'eau à 15 °C (figure 20A).

Après 30 minutes les géniteurs sont déplacés dans d'autres récipients se trouvant dans un bain à une température de 25 C°(figure 20B) pendant 30 minutes, l'opération est répétée encore une seconde fois.

Dans le cas d'obtention de(s) ponte(s) la moule est mise dans un autre récipient et replacée dans le bac pour recueillir le reste de gamètes (la durée de vie et la viabilité des gamètes sont limitées et les femelles peuvent filtrer les ovocytes en suspension).

Le nombre de cycles froid/chaud nécessaire à l'induction de la ponte dépend de l'état de maturité des gamètes et de l'empressement des adultes à la ponte. En été les adultes peuvent pondre une heure après l'expérience, mais en début de cycle cela peut prendre 3 ou 4 heures avant que le premier adulte ne commence à pondre. Généralement, ce sont les mâles qui émettent en premier (Helm et al, 2006).

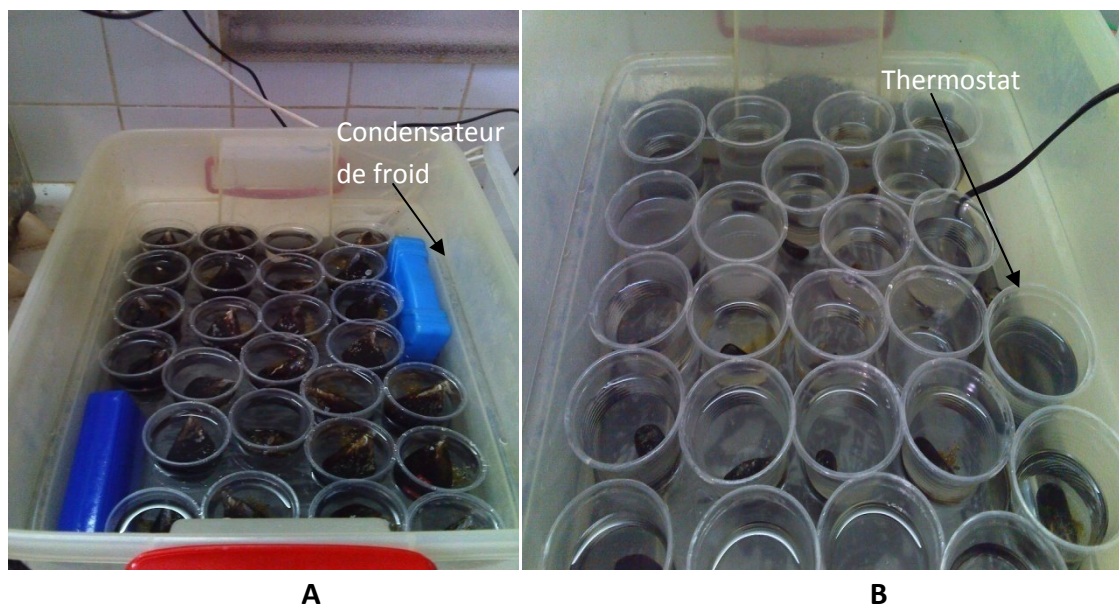


Figure 20: induction de la ponte chez *Mytilus galloprovincialis* par choc thermique.

1.3. Fécondation :

Avant la fécondation les ovocytes et les spermatozoïdes en suspension doivent être filtrés avec précaution à travers un tamis de maillage convenable (100 μm) maintenu de manière à ce que le fond du tamis soit en dessous du niveau de l'eau dans un récipient, cette étape permet d'enlever les déchets fécaux provenant des géniteurs.

Selon Beaumont et all (2004) le taux optimal de fécondation s'obtient avec une densité de 100 spermatozoïdes par ovocyte. Après l'estimation des densités des ovocytes et des spermatozoïdes, la fécondation s'est effectuée par un mélange de ces derniers dans un récipient, par la densité désiré (figure 21).



Figure 21: mélange de gamètes males et femelle de *Mytilus galloprovincialis*.

Une observation au microscope du mélange se fait chaque 5 minute. Un lavage des œufs est effectué juste après la fécondation, sur un tamis de maillage inférieur à la taille des œufs (40 μ m), le but de cette procédure est d'éliminer les spermatozoïdes dans le récipient, la présence en excès de ces derniers peut provoquer la "polyspermie" (Hoff et Snell, 1999), les œufs sont ensuite mis en incubation dans des bac contenant une eau de mer filtrée et stérilisée a une température de 24°C.

1.4. Développement embryonnaire.

Après fécondation et lavage, les œufs sont placés dans un bac d'eau de mer stérilisé, une observation au microscope chaque 2 heures en vue de suivre le développement des embryons et la détermination des différents stades jusqu'à atteindre le stade "larve D".

1.5. Récupération des larves D.

Larves D nouvellement formées sont vidangés 26 Heurs après fécondation dans un tamis placés dans un bac, contenant une quantité d'eau de mer stérilisée. Cet arrangement assure l'immersion permanente dans l'eau de mer de larves à la base du tamis, minimisant l'endommagement des coquilles fragiles des larves au cours de la vidange.

Toute larve retenue dans le récipient une fois vidangé est évacuée par jet d'eau de mer stérilisée. Une fois le récipient est complètement vidé les larves sont transférées vers un seau préparée pour la culture de ces dernières par vidange de l'eau de mer stérilisée doucement sur le tamis

1.6. Maintenance des larves.

Pour assurer une meilleure croissance des larves D différentes procédures doivent être effectuées périodiquement:

1.6.1. Nutrition et alimentation

Les embryons ont épuisé leurs réserves ils ont atteint le stade D ou les larves peuvent ingérer la nourriture, il est donc nécessaire d'ajouter une quantité de micro algues de petites tailles, un mélange de deux ou trois espèces de valeur nutritive élevée (diatomées ou flagellés) est bénéfique pour l'amélioration du développement larvaire. La vérification de la disponibilité de la nourriture dans les seaux de culture est nécessaire en effet les larves ne peuvent pas rester longtemps sans nourriture.

Durant les quatre premiers jours les larves sont nourries par un mélange de deux espèces de microalgues: *Pavlova lutheri* avec une densité cellulaire de $3392 \text{ cellule} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ et *Nanochloropsis oculata* d'une densité de $51,8 \times 10^6 \text{ cellule} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. Le volume du mélange algal rajouté est de l'ordre de 100 ml pour un 1 litre culture des larves.

Dés le cinquième jour le volume de l'ensemble et la ration alimentaire s'avère déficitaire, après observation sous microscope, le volume de mélange de culture algale est alors augmenté 200 ml pour un litre de culture larvaire.

1.6.2. Aération

Une aération légère est assurée à l'aide d'aérateurs à sortie unique pour empêcher la décantation et l'oxygénation des larves.

1.6.3. Changement d'eau et lavage

Pour l'élimination des déchets et des métabolites nuisible un renouvellement d'eau se fait chaque 2 jour avec un lavage des larves.

La technique de lavage consiste à vider le seau dans un bac à travers un tamis de maillage supérieur au diamètre des larves, (63µm) ces dernières sont retenues dans le tamis de manière à ce qu'elles restent dans l'eau. Après nettoyage des seaux les larves sont remises dans l'eau de mer stérilisée avec un volume connue pour connaître la densité de culture.

1.7. Suivi de la croissance des larves

Des petits sous échantillons sont souvent prélevés pour mesure ultérieure des longueurs et largeurs des larves D. de tailles se fait à l'aide du logiciel "Tsview" version 6.1.3.9, (figure22) utilisé spécialement pour des mesures microscopiques. Des photos doivent être prises chaque jour par un microscope connecté à un ordinateur.

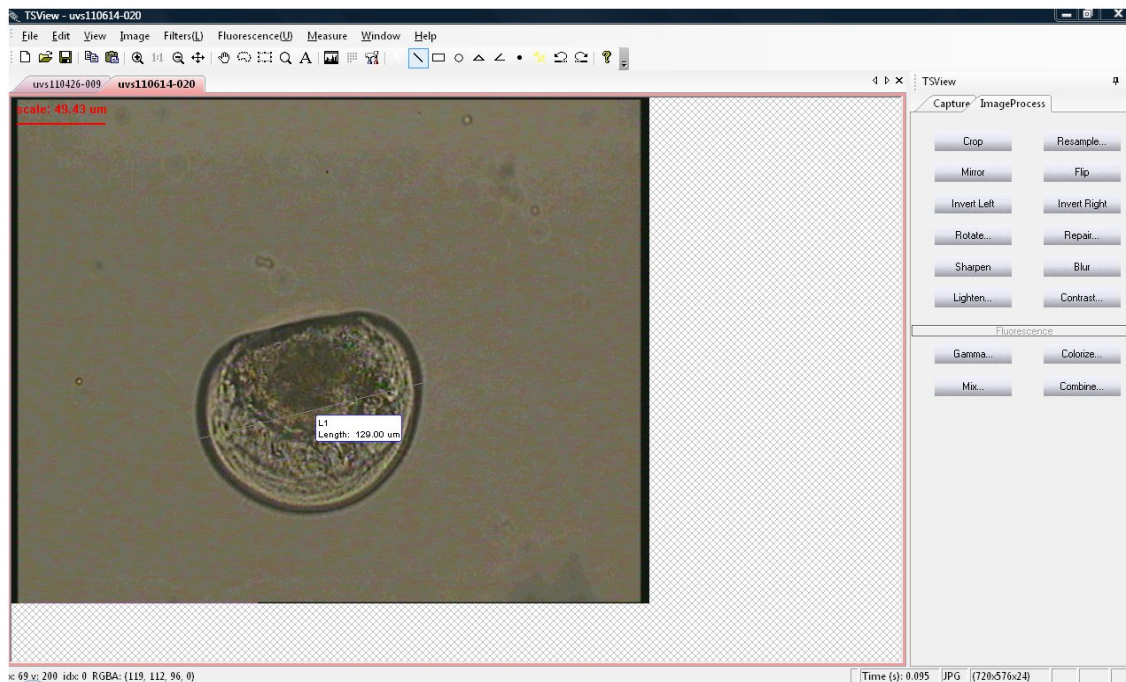


Figure 22: principe de fonctionnement du logiciel Tsview version 6.1.3.9.

2. Résultats

2.1. Induction de la ponte

L'induction de la ponte par choc thermique a permis d'avoir une émission de gamètes, de 05 mâles et 02 femelles, l'émission des gamètes mâles a été obtenue après le premier cycle, quant au femelle, l'émission a été observée durant le second cycle de bain froid-chaud (figure23).

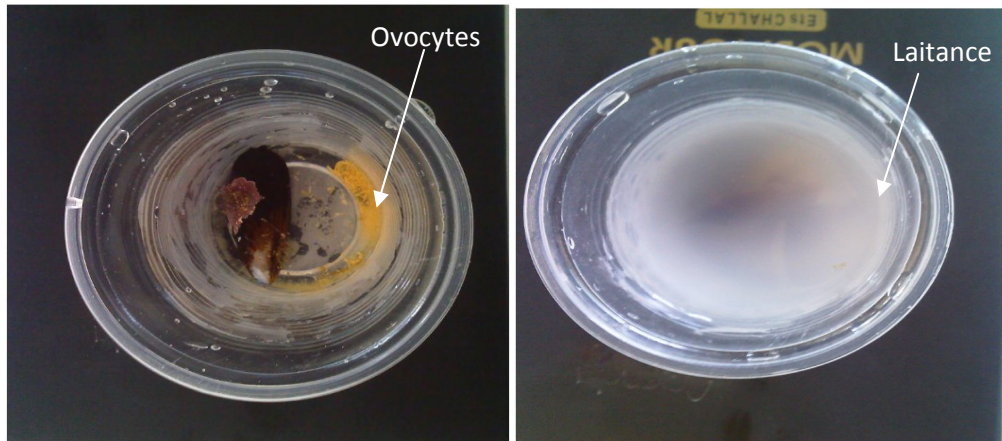


Figure 23 : émission de gamètes male et femelle de la moule *mytilus galloprovincialis*.

Ovocytes et spermatozoïdes

Les ovocytes de forme sphérique d'un diamètre de $64,59 \mu\text{m} \pm 2,15$ (figure 24) et de densité de 10^3 ovocyte. ml^{-1} dans le volume est de 300 ml, cependant la densité des gamètes mâles est de $4,3 \times 10^6$ spermatozoïdes par ml.

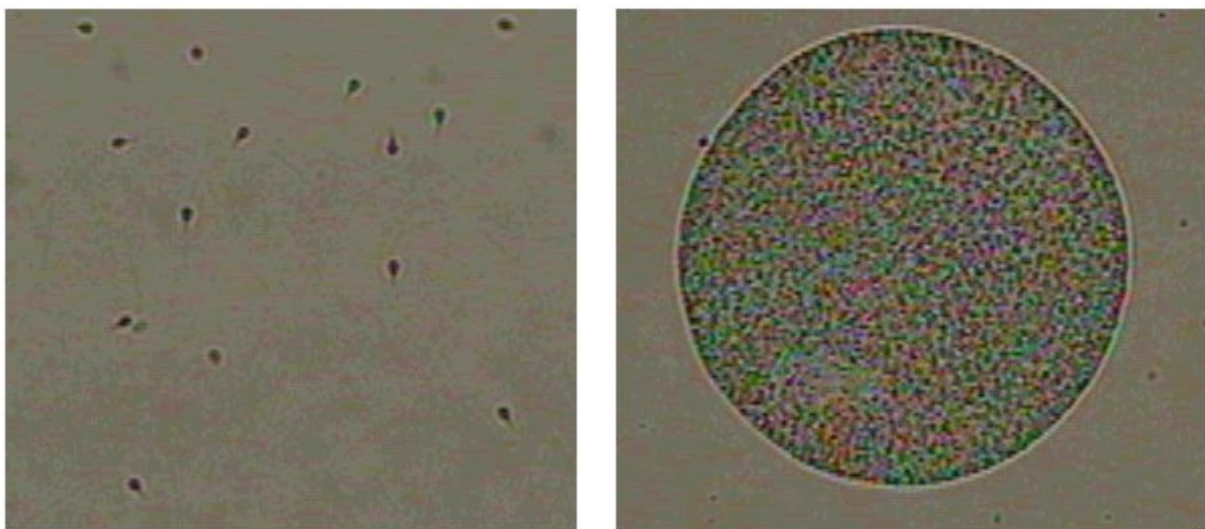


Figure 24: spermatozoïdes et ovocyte de la moule *Mytilus galloprovincialis*

2.2. Fécondation et développement embryonnaire.

Le développement embryonnaire de la moule *Mytilus galloprovincialis* débute avec la formation du zygote après fécondation. La membrane de fécondation s'observe 5 minutes après le mélange de gamètes, avec un espace transparent qui sépare cette dernière du contenu de l'ovocyte (Figure 25A), 30 minutes après, l'embryon subit une première division après la libération du premier et second corps polaires (figure 25B), suivi d'une série de division cellulaire qui aboutie au stade morula dans les 2 heures qui suivent la fécondation (figure 25CDE), 17 heures plus tard l'embryon se transforme en une larve trochophore qui se caractérise par l'apparition du flagelle centrale et le velum bien individualisé (figure 25F).

Tableau VI: évolution des stades embryonnaires de *Mytilus galloprovincialis* à 22° C±1

Stade	Age	Diamètre (µm)	Caractéristique
Ovocyte	0	64,59 ±2,15	Réserves vitellins
œuf	5minutes	64,95 ±0,30	Membrane de fécondation
Libération corps polaire	30 minutes	71,03±3	Corps polaire a la périphérie de zygote
Première segmentation	37 minutes	72,81± 9,57	Cellule étranglée
Morula	2 heures	75,01±2,18	Multicellulaire avec le corps polaire
Trochophore	19heurs	90,84±4,86	Mobile, flagelle centrale et velum cilié

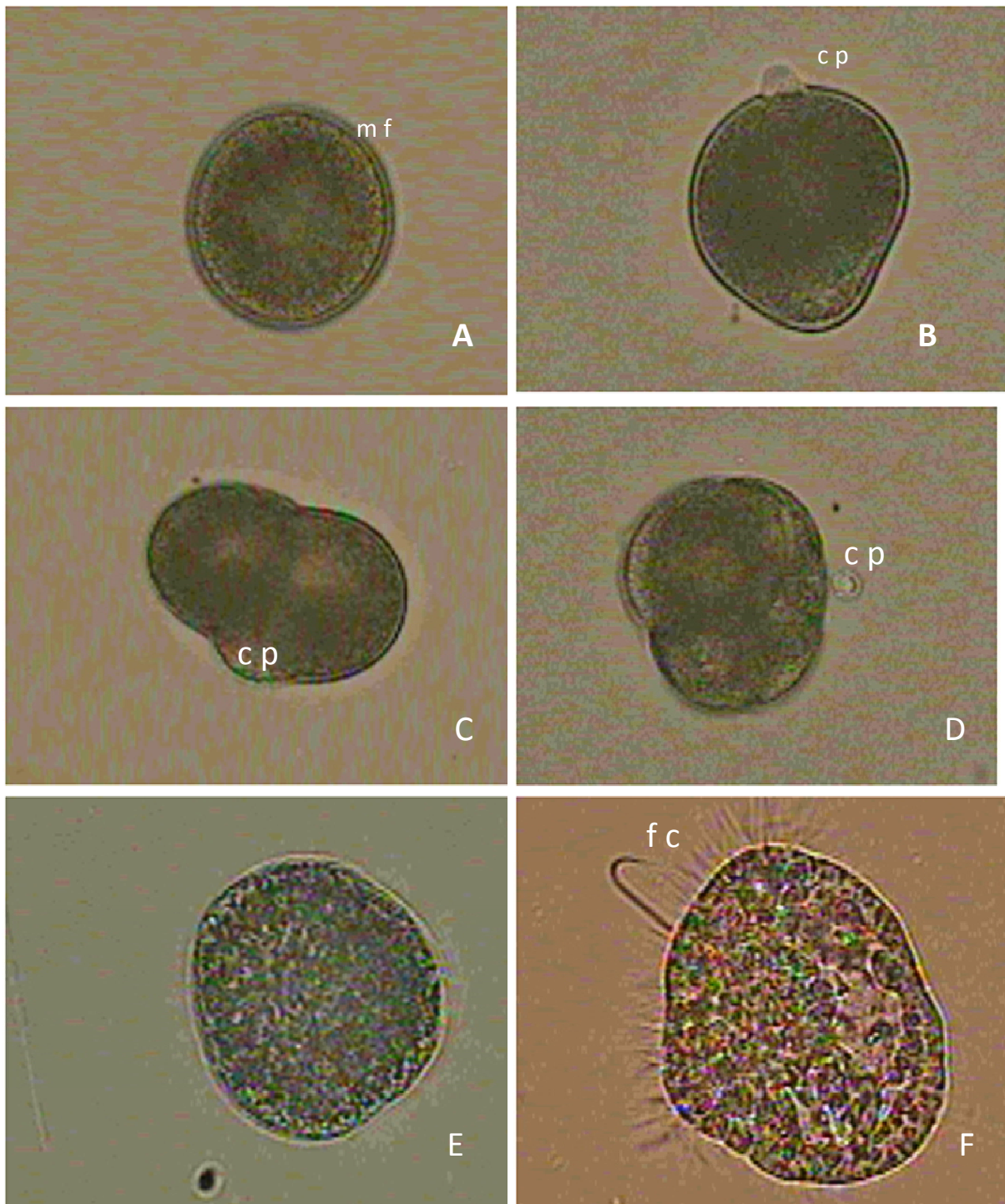


Figure 25: développement embryonnaire de *Mytilus galloprovincialis*

A œuf (X40), B. apparition du premier corps polaire (X40), C. première division (X40), D. morula (X40), E. gastrula (X40), F. larve trochophore (X40), m.f membrane de fécondation c.p corps polaire f.c flagelle centrale

2.3. Le développement larvaire.

Larve D: le développement de l'embryon donne, au bout de 26 heures, une larve avec une valve en forme de D majuscule, les larves se caractérisent par le velum cilié rétractile et la disparition du flagelle central, elles montrent un estomac bien développé occupant une grande partie de la cavité palléale d'une couleur brun verdâtre dû à l'ingestion des microalgues (figure 26)

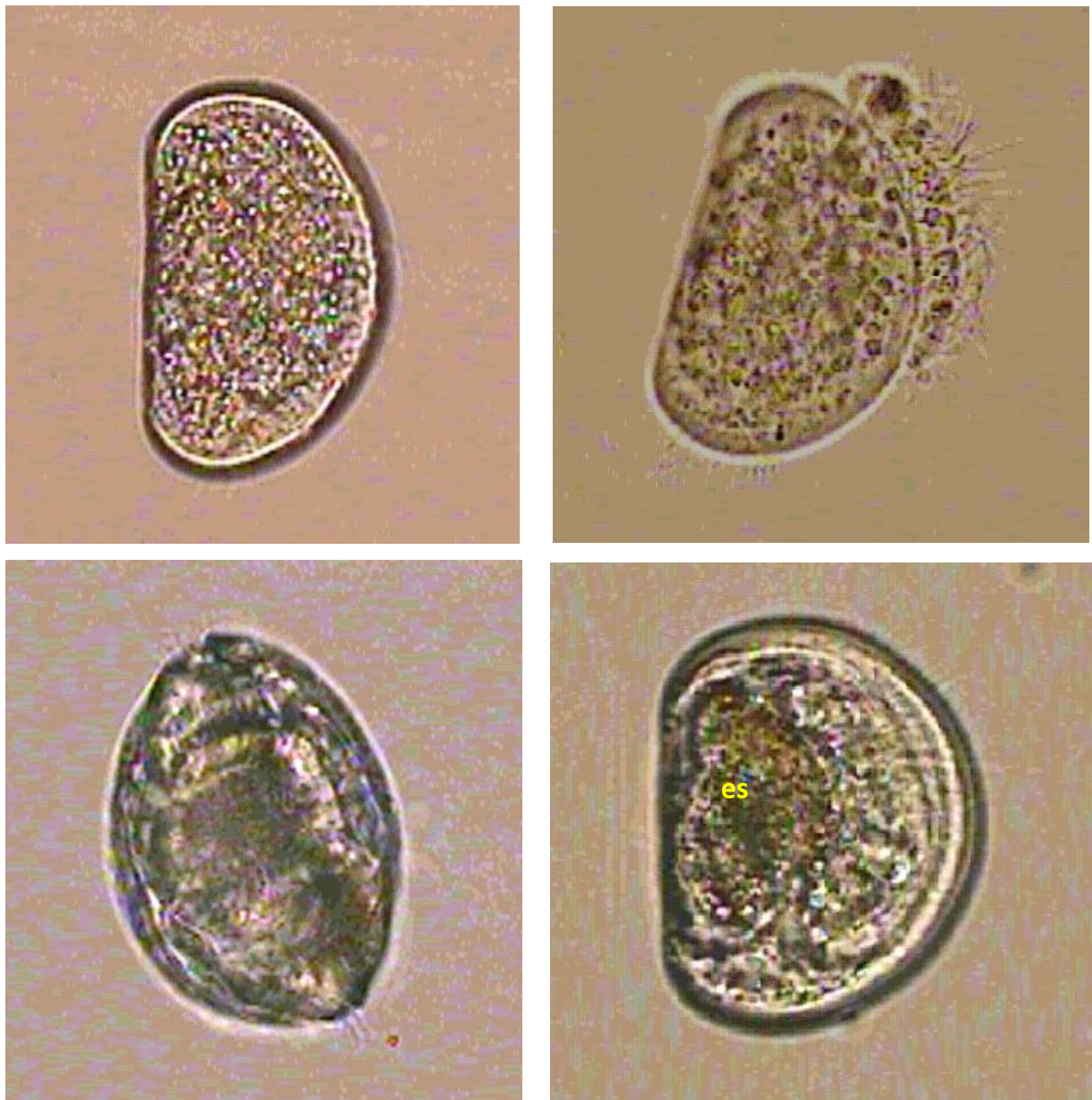


Figure 26 : larves D de *Mytilus galloprovincialis* (x40), es. Estomac

Larve umbo-véligère: les larves âgées de 13 jours montre une modification morphologique de la valve avec la perte de la forme de D, accompagnée la courbure auprès de la charnière pour la formation de l'umbo qui est bien visible vers le 14^{ème} jour (figure27), avec une longueur de $148,74 \mu\text{m} \pm 6,84$ (tableau VII)

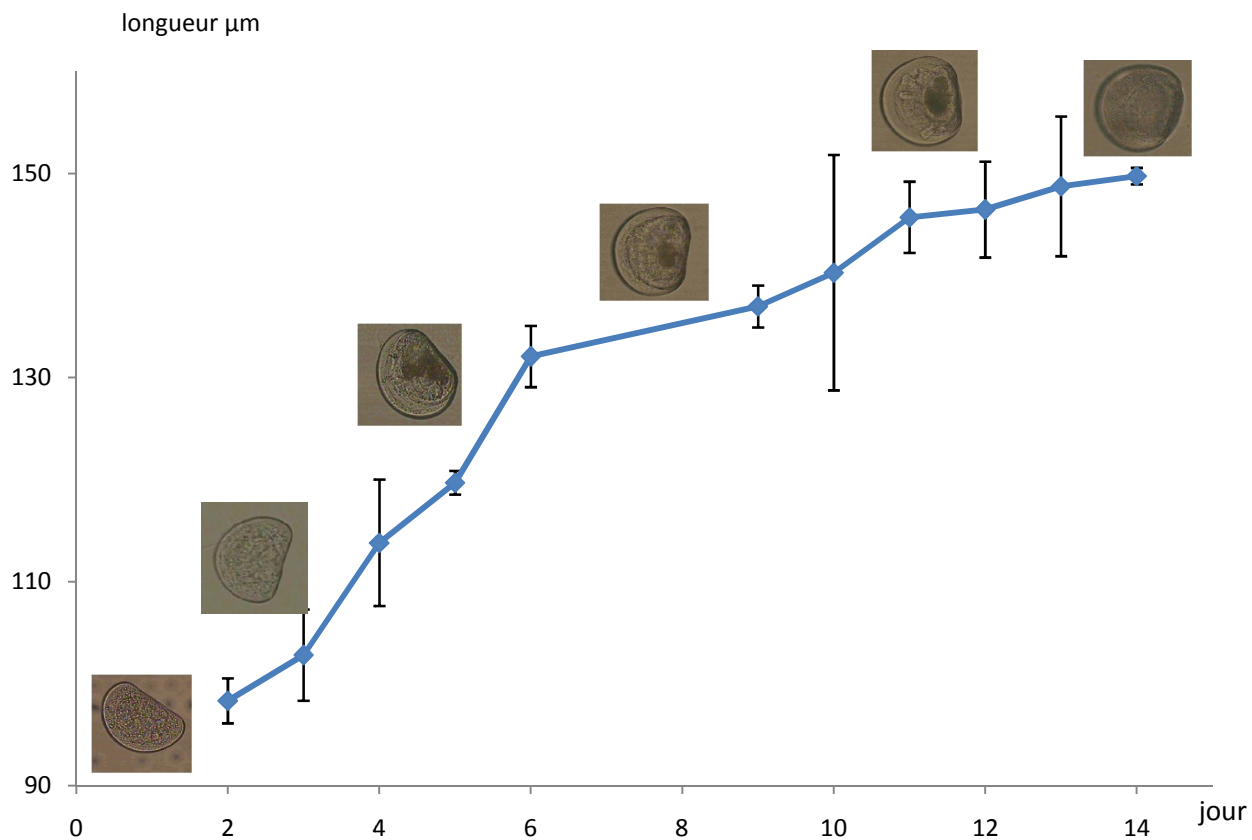


Figure 27: la larve umbo-véligère (x40) um : umbo

Selon le tableauVII illustré par le graphe (figure 28), La taille des larves D varie de $98,31 \mu\text{m} \pm 2,21$ à $146,47 \mu\text{m} \pm 4,70$ du 2^{ème} au 12^{ème} jours, deux phase de croissance sont distinctes, un taux de croissance de $8,44 \mu\text{m}.\text{jour}^{-1}$ pour la première phase du 2^{ème} au 6^{ème} jour, et de $2,4 \mu\text{m}.\text{jour}^{-1}$ pour la seconde période du 6^{ème} au 12^{ème} jours.

Tableau VII: longueur moyenne de larves D à 22°C±1

Age en jours	Longueur moyenne (\pm intervalle de confiance)
2	98,31 \pm 2,21
3	102,79 \pm 4,46
4	113,80 \pm 6,19
5	119,70 \pm 1,16
6	132,07 \pm 3
9	136,97 \pm 2,05
10	140,28 \pm 11,54
11	145,72 \pm 3,49
12	146,47 \pm 4,70
13	148,74 \pm 6,84
14	149,75 \pm 0,81

Figure 28 : Croissance en longueur de larves de la moule *Mytilus galloprovincialis*

3. Discussion.

Ponte par choc thermique

Différents essais de choc thermique pour induction de la ponte des mollusques bivalves ont été réalisés, le temps nécessaire pour l'obtention de gamètes est très important dans des éclosiers modernes. Pronker A.E et al (2007) ont fait des essais d'induction de la ponte par choc thermique de 20 minutes pour le bain chaud (30°C) et la même durée pour le bain froid (18°C) l'expérience sur des moules conditionnés pendant 6 semaines, le temps de réponse était inférieur à 45 minutes, et 80% des individus ont pondu, un autre groupe conditionné avec un régime alimentaire similaire au premier groupe de densité cellulaire inférieure la ponte a eu lieu 3,5 heures après l'expérience et le taux de réussite est de 17%.

Durant ce travail les géniteurs de la moule *Mytilus galloprovincialis* sont provenus d'un gisement naturel la ponte a eu lieu 50 minutes après le début de l'expérience de choc de 30 minutes dans le bain chaud et 30 minutes pour le bain froid, avec un taux de réussite de 15%. La comparaison entre ces études ne montre pas de différence par rapport au temps de réponse mais une différence nette pour le taux de réussite de ponte, celui-ci serait lié au régime alimentaire et le stress physique, en effet selon Bayne (1978) le stress réduit le taux de réussite de la ponte.

La taille des ovocytes.

Le diamètre des ovocytes de la moule *Mytilus galloprovincialis* est proche de celui mentionné par Ruiz.M et al (2008) pour la même espèce et avec aussi les autres espèces de mytilidés vivantes sur les côtes Chiliennes,

Tableau VIII : comparaison de la taille des ovocytes

Espèces de mytilidés	Taille ovocyte μm	Auteur
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	65 – 75	M. Ruiz et al
<i>Choromytilus chorus</i>	63,7 – 68	
<i>Aulacomya atra</i>	70,1 – 78,0	
<i>Mytilus edulis chilensis</i>	64,8 – 70,1	
<i>Semimytilus algosus</i>	68,3 – 78,7	
<i>Brachidontes granulata</i>	63 – 73	
<i>Perumytilus purpuratus</i>	115 – 131,2	
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	64,79	résultats personnel

Le développement embryonnaire

Le développement embryonnaire de la moule *Mytilus galloprovincialis* au cours de ce travail a duré 26 heures à une température de $22^{\circ}\text{C} \pm 1$, le stade morula est observé 2 heures après fécondation, et le stade trochophore 19 heures après fécondation. M. Ruiz et all (2008) a observé le stade morula 04 heures après fécondation et la trochophore de *Mytilus galloprovincialis* du chili, 24 heures après fécondation, à une température de 17°C .

Une étude sur une autre espèce de mytilidés *Perna perna*, menée par L. Aarab et all (2011), le suivi larvaire à une température de $21^{\circ}\text{C} \pm 1$ a donné la larve trochophore 22 heures après fécondation.

Le développement de l'œuf jusqu'au stade larve D est assuré par les réserves vitellines; le facteur agissant sur les temps nécessaires pour l'obtention des différents stades sera la température, Satuito et all (1994 in M. Ruiz 2008) montre dans son étude l'effet de la température sur le développement larvaire; il a signalé une différence significative entre 20, 16 et 12°C où les larves trochophores ont été atteintes en 18 heures 30 minutes, 23 heures 30 minutes et 27 heures respectivement.

Tableau IX: temps de développement larvaire de la moule *Mytilus galloprovincialis* à 17°C et 22°C et de *Perna perna* à 21°C

Especes	<i>Perna perna</i>	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	
Auteurs	L. Aarab et all (2011) ($21^{\circ}\text{C} \pm 1$)	M. Ruiz (2008) ($17^{\circ}\text{C} \pm 1$)	Cette étude ($22^{\circ} \pm 1$)
Stade			
Œuf	5 minutes	5 minutes	5 minutes
Corps polaire	10 minutes	35 minutes	30 minutes
Zygote première segmentation	40 minutes	40 minutes	35 minutes
Morula	2 heures 30 minutes	4 heures	2 heures
Trochophore	18 heures	24 heures	19 heures
Larve D	40 – 44 heures	44 heures	26 heures
Umbo-véligère	11 – 14 jours	11 jours	13 jours

La larve D

La larve D de la moule *Mytilus galloprovincialis* a une température de $22^{\circ}\text{C}\pm 1$ est obtenue 26 heures après fécondation durant ce travail, Ruiz.M et all (2008) ont obtenus la larve D de la moule *Mytilus galloprovincialis* des cote du Chili 44 heures après fécondation, Aarab.L et all (2011) pour une étude sur le développement larvaire d'une espèce de Mytilidés *Perna perna*, le stade larve D est atteint 40 à 44 heures après fécondation (tableau IX).

Le développement larvaire.

le taux de croissance des larves D est de $4,58 \mu\text{m.jour}^{-1}$ de 2 à 13 jours, avec 2 phases remarquables a partir du graphe (figure28), une première de 2 à 6 jours avec un taux de croissance de $8,44 \mu\text{m.jour}^{-1}$, une valeur qui se rapproche du résultat obtenu par M.Ruiz et all (2008) pour la croissance des larves jusqu'aux 15^{ème} jours où le taux de croissance est de $12,11 \mu\text{m.jour}^{-1}$, à une température de 17°C . Une deuxième phase du 7^{ème} au 14^{ème} jour où le taux de croissance est de $2,4 \mu\text{m.jour}^{-1}$

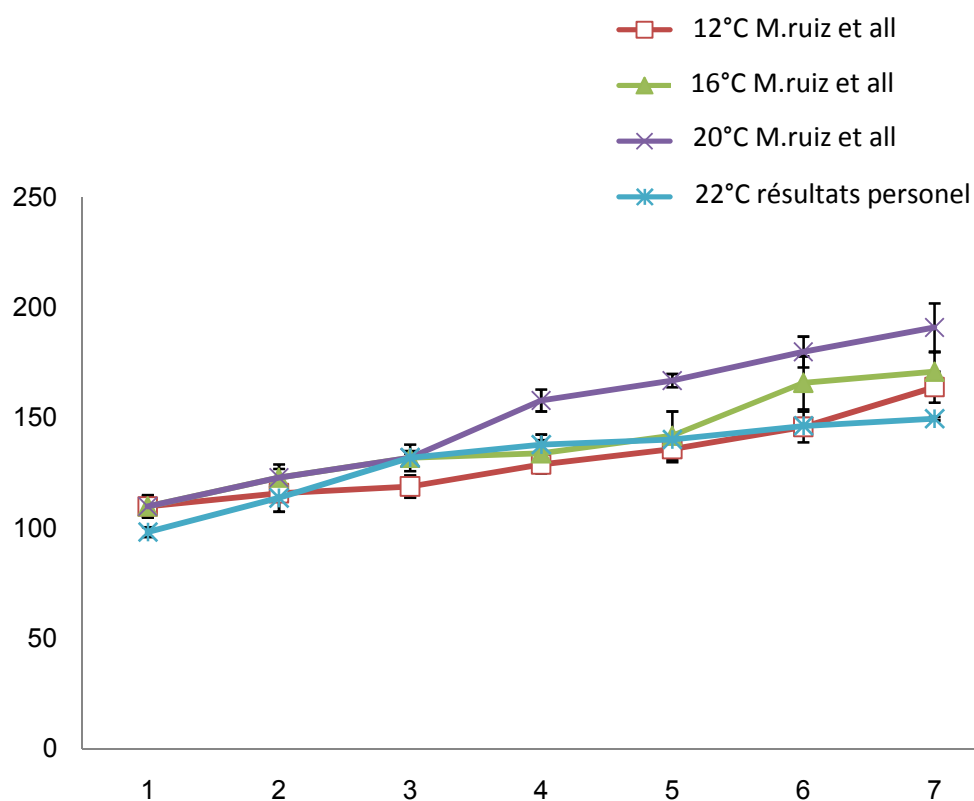


Figure 29: croissance de la larve D de la moule *Mytilus galloprovincialis* a différentes température

Mortalité larvaire

M.Ruiz, et all (2008) ont défini un régime alimentaire constitué d'*Isochrysis galbana* à partir du premier jour, et un mélange d'*Isochrysis galbana* et *Cheatoceros muelleri* à partir du 7^{ème} jour, avec un rajout d'une portion de *pavlova lutherii* à partir du 14^{ème} jour. Les larves ont été alimentées au cours de ce travail par un mélange de 2 cultures de microalgues (*Pavlova luthérii* et *nanochloropsis oculata*), la croissance des larves de *Mytilus galloprovincialis* est lié au régime alimentaire ce qui explique la diminution du taux de croissance à partir du 7^{ème} jour et un fort taux de mortalité. En effet selon R.Robert et P.Trintignac (1997) aucun régime alimentaire monospécifique n'a donné de résultats comparables à un régime plurispécifique de façon reproductible la supériorité d'une nourriture plurialgale.

Conclusion

Conclusion

Les essais de culture des micro-algues réalisés ont permis de maîtriser les différentes techniques permettant une culture jusqu'à l'échelle intermédiaire. L'utilisation du milieu Provasoli F/2 modifié pour la culture des microalgues au cours de cette étude a permis d'avoir pour *Tétracelmis suecica* et *Pavlova lutheri* des densités de culture moyenne, l'utilisation d'un milieu F/2 plus complet donnerait de meilleurs rendements.

La moule *Mytilus galloprovincialis* durant ses premiers stades de développement larvaire jusqu'à la formation de la larve D présente une période d'activité intense puisant dans les réserves, la durée de cette période et la viabilité des larves dépendent étroitement de la température du milieu. Durant les stades larvaires qui suivent, où les larves commencent à s'alimenter, leur survie dépend essentiellement de la quantité et la qualité des microalgues ingérées.

Ce travail représente un premier essai pour la maîtrise des techniques de production de naissains de la moule *Mytilus galloprovincialis* en éclosion, il serait très intéressant de le reprendre pour le compléter et permettre la maîtrise du cycle d'élevage jusqu'au stade de la larve fixée. Pour un meilleur élevage larvaire, une production de micro-algues de qualité avec des quantités adéquates serait un facteur clé pour la bonne croissance et la viabilité des larves. Aussi il serait intéressant de faire un conditionnement des géniteurs afin d'avoir des pontes hors périodes et d'étudier l'effet de l'alimentation et des différentes mixtures de micro-algues sur la maturité des gonades.

Références bibliographiques

Aarab.L, M.P. Viera, A. Pérez-Camacho, G. Courtois de Vicose, H. Fernández-Palacios, L. Molina, M.S. Izquierdo (2011). Embryonic development and influence of different dietary microalgae on growth of brown mussel *Perna perna* (L., 1758) larvae. 20p.

Agreste (2006). Recensement de la conchyliculture. Rev. Pays de la Loire France. 4p.

Auby.I ,Maurer.D (2004). Etude de la reproduction de l'huître creuse dans le Bassin d'Arcachon Rapport final.IFREMER. 185p.

Azma.M, Rosfarizan.M, Raha.A et Arbakariya B. Ariff (2010). Culture and Adaptation to Heterotrophic Cultivation Improved Protocol for the Preparation of *Tetraselmis suecica* Axenic .The Open Biotechnology Journal 4, 36-46 P.

Beaumont A, Turner G,Wood A, Skibinski DOF (2004) Hybridisation between *Mytilus edulis* *Mytilus galloprovincialis* and performance of pur species and hybrid veliger larvae at different temperature. J Exp MAR biol ECOL302:177-188.doi: 10.1016/J.jemb.2003.10.009

Bayne BL, Holland DL, Moore MN, Lowe DM, Widdows J (1978). Further studies on the effects of stress in the adult on the eggs of *Mytilus edulis*. J Mar Biol Ass UK 58:825–841p

Bechagra.A (1996). La culture des microalgues. Mémoire DEUA. Ismal. 42p.

Bensam. H et Behloul.M (2009) étude physicochimique et biologique d'un site conchylicole: cas de la ferme "ORCA marine" Ain Taya avec essai de reproduction artificielle des espèces en élevage. Mém ingénieur en science de la mer (spécialité aquaculture) (ENSSMAL) 51 p.

Berger.C, M.Romaniv. V.Sourribesm.M.Barral (2007). recueil des bonnes pratiques environnementales en conchyliculture. 45p.

Bernabe G. (1989) : Aquaculture (volume 1) . *Ed lavosier*, 565p.

Bernabe.G. (1991). Base biologique et écologique de l'aquaculture. Ed Lavoisier 501 p

Blancheton.A (1985-86). Production d'Algues unicellulaires. IFREMER.19p.

Boudjema.A et Ourari.S (2005) : description du centre conchylicole pilote du CNDPA et proposition d'un plan de gestion. Mémoire d'ingénieur (optionaquaculture). ISMAL. 51p.

Boukri.K et Cherifi.L (2009) installation d'une filière conchylicole: conception, construction et mise à l'eau d'une filière mytilicole mém DEUA ENSSMAL 37 p.

Boutouchent et Mila (2005). Étude technico-économique pour l'installation et le fonctionnement d'un centre conchylicole pilote dans la wilaya de Tipaza (Algérie). Thèse de master Européen. Option aménagement et gestion des produits aquatiques. 76p

Cauvier. L (2005) transformation commerciale de la moule bleue d'élevage *Mytilus edulis* / *Mytilus trossulus*. Guide a l'intention des employés de production de l'usine (centre spécialisé des pêches grandes-rivières) 24 p.

Chiperfield. (1953) observations on the breeding and settlement of *mytilus edulis* (L) in british water journal of the marine biological association of th united kingdom vol 32 n° 2 1953.

Chebab. B. (1996) : Influence sur la reproduction de l'immersion permanente de *mytilus galloprovincialis* (LMK) placé en élevage. Contribution à l'amélioration des techniques de captage en milieu naturel. Thèse magistère. ISMAL. 310p.

CNC, 2006. La conchyliculture française. www.cnc-france.com

Devier.M.H (2003). étude intégrée sur l'impact des différentes classes de contaminants (composés organostanniques, métaux, HAP, PCB) sur les moules. Bioaccumulation et réponses biochimiques. Thèse de doctorat spécialité : chimie analytique et environnement. Université Bordeaux I. 309p.

Djediati C.(1993) : Etude histo-physiologique et ultra structurale de la gonade femelle de *Mytilus galloprovincialis* LMK, Mollusque bivalve lamellibranche. Estimation de la maturité sexuelle de la population. Thèse de magister histo-cytologie (option biologie marine) ; ISN, USTHB Alger. 90p.

Ducruet.J , 2000. Organisation d'une lamellibranche : la moule. université Claude Bernard Lyon I. Lab.d'Ecologie des Hydrosystèmes Fluviaux, enseignement de Biologie des Organismes Animaux du Deug Science de la Vie et de l'Univers.

FAO. (2010) : la situation mondiale des pêches et de l'aquaculture département des pêches et de l'aquaculture de la FAO. 223p.

FAO (2011) Vue générale du secteur aquacole national Algérie. Département des pêches et de l'aquaculture de la FAO. (www.fao.org).

IFREMER (2006). <http://wwwz.ifremer.fr/aquaculture/conchyliculture/>

Guéret.M (2004). La culture en batch. <http://www.aquoa.net/spip.php?article13>.

Hadjadji.N (2002). Essai de culture de l'espèce de microalgue *Chlorella* sp dans différents milieux de culture. mém DEUA. ISMAL.

Hamiche.S et Tounsi.A (2009) Contribution à l'étude hydro biologique et de la productivité d'un site conchylicole cas du site de la ferme "ORCA marine" à Ain Taya mém DEUA, ENSSMAL 55 p .

Haouchine M (1995) écologie et biologie de la reproduction de la moule M.G (LMK) au sein d'un système lagunaire saumâtre lac EL-MELAH. Thèse de magistère ISN, USTHB algérie 56p.

Helm.M et Bourne.N et Lovatelli.A (2006). (comp. /éd.) Ecloserie de bivalves. Un manuel pratique. FAO Document technique sur les pêches. No. 471. Rome, FAO. 2006. 184p

Hoff et Snell (1999). Plancton culture manuel. Florida Aqua Farms, Inc. 161P.

LI. Hui (2008). Comportement cellulaire et régulation génétique au cours des réactions d'immunité innée chez la moule *Mytilus galloprovincialis*. Thèse de doctorat. Univ.Montpellier II. Ecole doctorale SIBAGHE. 126 P.

Lewin.J.C (1958). The Taxonomic Position of *Phaeodactylum tricornerutum*. J . gen. Microbiol. Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, Mass., U.S.A. p 427-432.

Lubet.P (1959). Recherche sur le cycle sexuel et l'émission des gamètes chez les mytilidés et les pectinidés (Moll. Bival). Rev. Trav. Inst. Pêche Marit 23 (4). p : 389-548.

- Lubet.P** (1973). Exposé synoptique des données biologiques sur la moule *Mytilus galloprovincialis* (LMK, 1819). Synop FAO sur. les pêches (88). P : 1-49
- Marteil.L** (1974). La conchyliculture française ; 1^{ère} partie : Le milieu naturel et ses variations. rev. Trav. Inst. Pêches maritimes,38(3) p : 217-337.
- Marteil.L** (1976). La conchyliculture française ; 2^{ème} partie : Biologie de l'huitre et de la moule. rev. Trav. Inst. Pêches maritimes,40(2) p : 149-346.
- Marteil.L** (1979). La conchyliculture française ; 3^{ème} partie : l'ostréiculture et la mytiliculture. Rev.trav.inst.pêches maritimes, 43(1) p : 10-130.
- Merbahs.S** (2009). Contribution à l'étude de la dynamique de population de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819) et de sa faune associée, sur filières mytilicoles (Wilaya de Tipaza). Thèse de magister (option Océanographie Biologique et Environnement Marin) ; ISN, USTHB Alger. 73p
- Meziane et Sfasfa** (2005). Conception et mise en place de collecteurs pour naissains de bivalves au niveau de la station conchylicole de Ain Tagourait (wilaya de Tipaza)memoire en vue de l'obtention du diplôme d'études universitaires appliquées (DEUA) en sciences de la mer.ISMAL.43p.
- Muller-Feuga. A** (1997). Microalgues enjeux de la recherche. IFREMER. 35p.
- Nedelec.M** (2009) La culture de Phytoplancton. enseignement agricole formation grandeur nature, agro campus ouest , centre de Renne
- Olivo.E** (2007). Conception et étude d'un photobioréacteur pour la production en continu de microalgues en écloséries aquacoles. Thèse De Doctorat. univde nantes ecole polytec.258p.
- Pettersen.A.K , G.M. Turchini , S. Jahangard , Brett A. Ingram , Craig D.H. Sherman.** (2010). Aquaculture. Effects of different dietary microalgae on survival, growth, settlement and fatty acid composition of blue mussel (*Mytilus galloprovincialis*) larvae.ELSEVIER. 9P 115-124
- Ponis.E, G. Parisi, G. Chini Zittelli, F. Lavista, R. Robert et M.R. Tredicic** (2008). *Pavlova lutheri*: Production, preservation and use as food for *Crassostrea gigas* larvae .Archimer. Volume 282 (1-4): P 97-103.
- Pronker.A.E , Nevejan.N.M, Pieter.F.p,Sorgeloos.G.P** (2007) Hatchery broodstock conditioning of the blue mussel *Mytilus edulis* (Linnaeus 1758). Part I. Impact of different micro-algae mixtures on broodstock performance Aquacult Int (2008) 16:297–307p.
- Rayssac.N.**2007. Suivi larvaire et de captage de mollusques en Gaspésie. Suivi larvaire et de captage de mollusques en Gaspésie.Projet SODIM (710.88).Rapport final. Université du Québec à Rimouski.Institut des sciences de la mer. 46p
- Robert.R et Trintignac.P** (1997). Microalgues et nutrition larvaire en éclosérie de mollusques. Société Française de Malacologie. Haliotis 26: 1-13p.
- Robert.R Et His** (1987). Croissance et spectre de tailles de six algues Utilisées pour la nutrition de larves de bivalves En éclosérie, en culture non renouvelée. Quai du Commandant-Silhouette, 33120 Arcachon, France IFREMER

Ruiz.m, Tarifeno.E, Rivera.A, Padget.C, Campos.B (2008). Effect de la temperatura en el desarrollo embrio y larval del mejillon *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). Revista de biologia marina y oceanographia 43(1) : 51-61p.

Thomas.H Galley.F.M. Batista. R.Braithwaite. Jon King. Andy R.Beaumont (2009), Optimisation of larval culture of the mussel *Mytilus edulis* aquacult Int, Foi 10.1007/s10499-9245-7.

Thomas.Y, J.Mazurié, Jean-F.Bouget, S.Pouvreau, C.Bacher, F.Gohin (2006). Modélisation de la croissance de la moule *Mytilus edulis* (L.) par couplage d'un budget énergétique dynamique et de données environnementales satellitaires. IFREMER. 22p.

Troadec.J.P (1985). Revue économique de la conchyliculture. Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (aquo.net). 06p.

Toupoint.N(2009).compréhension des mécanismes assurant le succès de l'approvisionnement en naissain de moule de qualité dans le bassin du havre-aubert (îles-de-la-madeleine). Rapport final : Doctorant en océanographie biologique. UQARISMER. 42p.

Villeneuve F., Desire CH. (1965) : Zoologie, collection de sciences naturelles par Charle. Desire. Classe de 1 M, BORDAS. 336 p

Site internet. biomessixth10.wikispaces.comOpen+Ocean+Facts (1).

<http://www.aquo.net/>

Les annexes

Annexe 01

Tableau : Principaux producteurs de mollusques d'aquaculture en 2000.

Espèces	Production (tonnes)	Principaux pays producteurs
Huitre du Pacifique (<i>Crassostrea gigas</i>)	3 944 042	Chine, Japon, République du Corée, France, USA.
Palourde du Japon (<i>Ruditapes philippinarum</i>)	1 693 012	Chine, Italie, République du Corée.
Pétoncle du Japon (<i>Platinopecten yessoensis</i>)	1 132 866	Chine, Japon.
Moule commune (<i>Mytilus edulis</i>)	458 558	Espagne, Pays-Bas, France.
Arche granuleuse (<i>Anadara granosa</i>)	319 382	Chine, Malaysia, Thaïlande.
Moule de Méditerranée (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	177 271	Italie, France, Grèce.
Moule verte asiatique (<i>Perna viridis</i>)	87 533	Thaïlande, Philippines, Malaisie.
Moule de Nouvelle Zélande (<i>Perna canaliculus</i>)	76 000	Nouvelle Zélande
Paraire (<i>Mercenaria mercenaria</i>)	50 685	Taiwan, USA.

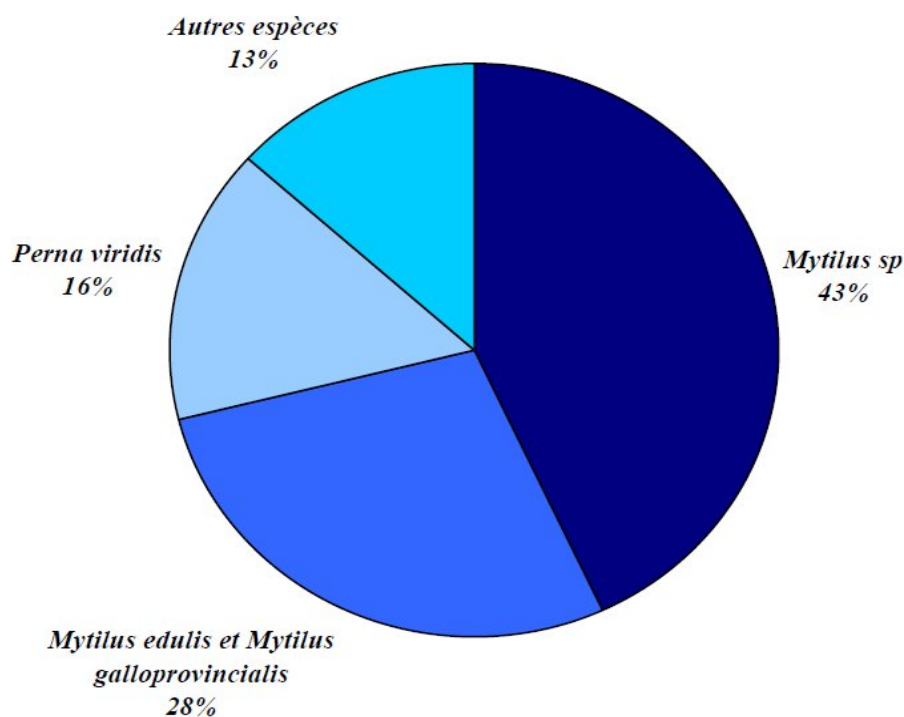


Figure 3. Production Mondiale en 2005 des différentes espèces de Moules.(Merbah.S, 2009).

Annexe 02

Les différents milieux de cultures utilisés pour la culture des microalgues (source : www.aquoa.net).

Milieu Walnes.

Solution principale :

Composition pour 10 litres :

Nitrate de sodium (NaNO ₃)	680 g
Di-hydrogénophosphate de sodium (NaH ₂ PO ₄)	200 g
Acide Ethylènediamine tetraacétique de sodium (Na ₂ EDTA)	400 g
Acide borique (H ₃ BO ₃)	20 g
Solution métallique	800 ml
Seawater solution	40 ml
Qsp 10 litres d'eau déminéralisée	

Solution métallique :

Composition pour 10 litres :

Chlorure de fer hexahydraté (FeCl ₃ , 6H ₂ O)	213,2 g
Sulfate de manganèse monohydraté (MnSO ₄ , H ₂ O)	15,0 g
Sulfate de zinc (ZnSO ₄)	2,5 g
Sulfate de cuivre pentahydraté (CuSO ₄ , 5H ₂ O)	2,0 g
Sulfate de cobalt heptahydraté (CoSO ₄ , 7H ₂ O)	0,26 g soit 26 ml de Solution a
Molybdate de sodium dihydraté (Na ₂ Mo ₄ , 2H ₂ O)	0,14 g soit 14 ml de solution b
Fluorure de sodium (NaF)	0,10 g soit 10 ml de solution c

Solutions a, b et c : 1 g de chaque produit respectif qsp 100 ml d'eau déminéralisée.

Seawater solution :

Composition pour 500 ml :

Bromure de potassium (KBr)	32,5 g
Chlorure de strontium (SrCl ₂ , 6H ₂ O)	6,5 g
Chlorure d'aluminium (AlCl ₃ , 6H ₂ O)	0,25 g soit 25 ml de solution d
Chlorure de rubidium (RbCl)	0,1 g soit 10 ml de solution e
Chlorure de lithium (LiCl, H ₂ O)	0,05 g soit 5 ml de solution f
Iodure de potassium (KI)	0,025 g soit 2,5 ml de solution g

Solutions d, e, f et g : 1 g de chaque produit respectif qsp 100 ml d'eau déminéralisée.

Utilisation :

Ce milieu est utilisé pour la culture des micro-algues en eau de mer naturelle et artificielle.

Pour 1 litre d'eau de mer :

- 2 ml de solution principale
- 0,2 ml de solution vitaminique
- 2,5 ml de solution silicatée (cf milieu de Conway) pour les diatomées

Milieu Conway.

Solution principale:

Composition pour 10 litres :

Nitrate de sodium (NaNO ₃)	1000 g
Di-hydrogénophosphate de sodium (NaH ₂ PO ₄)	200 g
Acide Ethylènediamine tetraacétique de sodium (Na ₂ EDTA)	450 g
Acide borique (H ₃ BO ₃)	336 g
Chlorure de manganèse (MnCl ₂)	3,6 g
Chlorure ferrique (FeCl ₃)	13 g
Solution métallique	10 ml
Qsp 10 litres d'eau déminéralisée	

Solution Métallique :

Composition pour 1 litre :

Chlorure de zinc (ZnCl ₂)	21 g
Chlorure de cobalt hexahydraté (CoCl ₂ , 6H ₂ O)	20 g
Sulfate de cuivre pentahydraté (CuSO ₄ , 5H ₂ O)	20 g
Ammonium heptamolybdate tetrahydraté (6(NH ₄) Mo ₇ O ₂₄ , 4H ₂ O)	09 g
Qsp 1 litre d'eau déminéralisée	

Solution Vitaminique :

Composition pour 1 litre :

- 2 g de Thiamine (Vitamine B1)
- 0,1 g de cyanocobalamine (Vitamine B12)
- Qsp 1 litre d'eau déminéralisée stérilisée

Solution à conserver au réfrigérateur

Solution Silicatée (pour les diatomées) :

Composition pour 1 litre :

- 40 g de métasilicate de sodium (Na₂SiO₃, 5H₂O)
- Qsp 1 litre d'eau déminéralisée

Utilisation:

Ce milieu est utilisé pour la culture des micro-algues en eau de mer naturelle.

Pour 1 litre d'eau de mer :

- 1 ml de solution principale
- 0,1 ml de solution vitaminique
- 2,5 ml de solution silicatée pour les diatomées

Milieu F2 Provasoli.

Solution I:

Nitrate de sodium (NaNO_3) 750 g
Qsp 10 litres d'eau déminéralisée

Solution II :

Di-hydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4) 50 g
Qsp 10 litres d'eau déminéralisée

Solution silicatée (pour les diatomées) :

Métasilicate de sodium ($\text{Na}_2\text{SiO}_3, 5\text{H}_2\text{O}$) 300 g
Qsp 10 litres d'eau déminéralisée

Solution métallique:

Composition pour 10 litres :

Chlorure de fer hexahydraté ($\text{FeCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$)	31,5 g
Acide Ethylènediamine tetraacétique de sodium (Na_2EDTA)	43,6 g
Sulfate de cuivre pentahydraté ($\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$)	10 ml d'une solution à 9,8 g/L
Molybdate de sodium dihydraté ($\text{Na}_2\text{MoO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$)	10 ml d'une solution à 6,3 g/L
Sulfate de zinc heptahydraté ($\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$)	10 ml d'une solution à 22 g/L
Chlorure de cobalt hexahydraté ($\text{CoSO}_4, 6\text{H}_2\text{O}$)	10 ml d'une solution à 10 g/L
Chlorure de manganèse tetrahydraté ($\text{MnCl}_2, 4\text{H}_2\text{O}$)	10 ml d'une solution à 180 g/L
Qsp 10 litres d'eau déminéralisée	

Solution vitaminique :

Composition pour 10 litres :

2 g de Thiamine (Vitamine B1)
10 ml d'une solution à 1 g/L de cyanocobalamine (Vitamine B12)
100 ml d'une solution à 0,1 g/L de biotine (Vitamine H)
Qsp 10 litre d'eau déminéralisée stérilisée

Solution à conserver au réfrigérateur

Utilisation :

Ce milieu est utilisé pour la culture des micro-algues en eau de mer naturelle.

Pour 1 litre d'eau de mer :

1 ml de solution I
1 ml de solution II
1 ml de solution métallique
0,5 ml de solution vitaminique
1 ml de solution silicatée pour les diatomées

Annexe 03

Matériel nécessaire pour la culture des microalgues :

- Eau de mer filtrée stérilisée
- Eau douce pour ajuster la salinité
- Une pompe à vide pour la pré filtration de l'eau
- Des filtres de 0,45 μm
- Tubes à essais pour l'inoculation
- Des erlenmeyers de différents volumes (250 ml, 500 ml, 1000 ml) et des bouteilles de 5 litres pour les cultures intermédiaires.
- Des pipettes
- Autoclave pour la stérilisation de l'eau, des erlenmeyers, des tubes à essais et des pipettes
- Bec benzène et une bouteille de gaz pour assurer les conditions de stérilité
- Milieu de culture F/2
- Papier aluminium et para film
- Des aérateurs pour apporter les gazes nécessaires aux cultures algales
- Des cellules malassez, nageote pour le comptage journalier des microalgues
- Un microscope

Annexe 04

Tableau : caractéristiques des principales cellules de comptage (Blancheton.A 1985)

Type de cellule	Dimension de quadrillage L × T × p (mm)	Volume (ml)
Thoma	1 × 1 × 0.1	10 ⁻⁴
Agasse Lafont	1 × 1 × 0.1	10 ⁻⁴
Neubauer et Neubauer modifié	3 × 3 × 0.1	9.10 ⁻⁴
Mallassez	2,5 × 2 × 0.2	10 ⁻³
Fuchs Rosenthal	4 × 4 × 0.2	32.10 ⁻⁴
Agasse Lafont B	5 × 4 × 0.5	10 ⁻²
Lemaur	10 × 10 × 0.4	4.10 ⁻²
Nageotte	10 × 10 × 0.5	5.10 ⁻²

Description de la cellule malassez

C'est est une lame spéciale quadrillée de volume connu. elle est composé de cases qui, chacune, possède 4 lignes et 5 colonnes. Qui permet le comptage de différents types de cellules.

Le volume d'une case est de:

$$0,2 \times 0,25 \times 0,2 = 0,01 \text{ mm}^3 = 10^{-5} \text{ ml}$$

Remplissage de la cellule malassez

1. Prélever un échantillon de culture.
2. Homogénéiser l'échantillon.
3. fixer avec du formole (2gouttes dans 1ml) les micros algues flagellées.
4. Humidifier les parties extérieures à la lamelle. Déposer la lamelle sur la cellule de Malassez faire adhérer la lamelle a la lame en faisant glisser plusieurs fois la lamelle sur la lame.
5. Déposer l'échantillon sur le bord de la lame à l'aide d'une pipette pasteur – le liquide remplit alors la cellule par capillarité ; le comptage des algues mobile , les flagellés notamment, n'est possible que si elle sont tuées, pour se faire on rajoute une goutte de formole dans l'échantillon a compter

6. Mettre la lame au microscope.

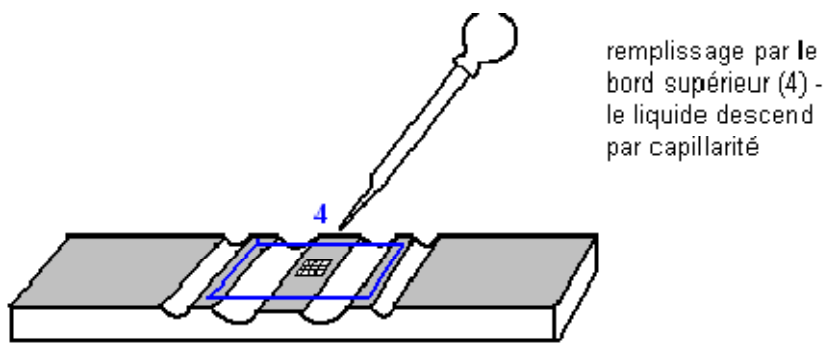
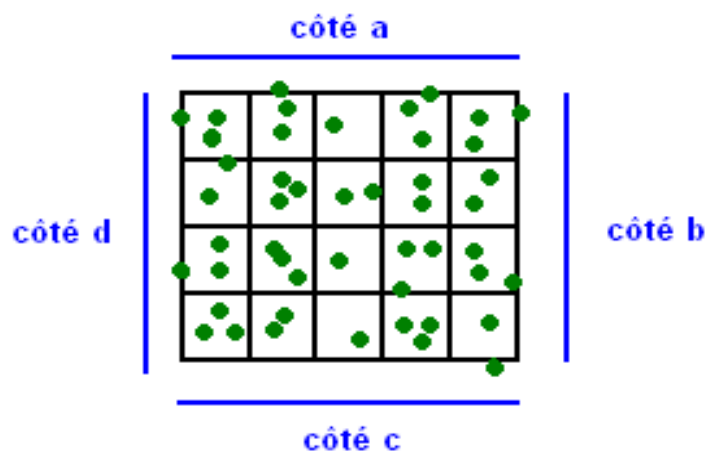


Figure 6: technique de remplissage de la cellule malassez

Dénombrement :

1. Faire une première mise au point à l'objectif x10 ;
2. Passez au grossissement x40 et faire la mise au point. Le quadrillage doit être bien visible.
3. Compter le nombre de cellules pour 5 cases.

Attention : pour les cellules positionnées sur les bords, on ne compte que celles situées sur 2 des 4 côtés de la case, par exemple, on compte les cellules sur les côtés a et (b), mais pas sur (c) ni (d).



Comment calculer le nombre moyen de cellules par case :

Exemple le nombre de cellules moyen par case = $225 : 5 = 45$

On a 45 cellules par 1 case

Soit : 45 cellules par 10^{-5} ml

5. Calculer la concentration cellulaire en cellules par ml :

45 cellules \longrightarrow 10^{-5} ml

[c] cellules \longrightarrow 1 ml

$[C] = (45 \times 1) / 10^{-5} = 45 \times 10^5 = 4,5 \cdot 10^6$ cellules/ml

Annexe 05

Tableau01 : variation de la concentration cellulaire de *Tetraselmis suecica* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log₂ (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 Provasoli.

Jour	Nombre de cell/ml.10 ³	Log ₂ (nombre de cell/ml)
01/06/2011	420	18,680
02/06/2011	480	18,872
05/06/2011	684	19,383
07/06/2011	696	19,408
08/06/2011	784	19,580
09/06/2011	848	19,693
13/06/2011	900	19,779
14/06/2011	980	19,902
15/06/2011	1096	20,063
17/06/2011	1074	20,034
29/06/2011	1074	20,034
20/06/2011	1046	19,996
21/06/2011	986	19,911
22/06/2011	960	19,872

Tableau 02: variation de la concentration cellulaire de *Phaeodactylum tricornutum* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log₂ (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 PROVASOLI.

jour	Nombre de cell/ml.10 ³	Log ₂ (nombre de cell/ml)
16/05/2011	432	18,720
17/05/2011	532	19,021
18/05/2011	842	19,683
19/05/2011	1158	20,143
22/05/2011	1540	20,554
24/05/2011	5650	22,429
25/05/2011	9800	23,224
26/05/2011	8300	21,364
29/05/2011	2700	21,364

Tableau 03 : variation de la concentration cellulaire de *Pavlova lutheri* exprimée en nombre de cellule/ml, et en Log₂ (nombre de cellule/ml) en fonction de temps dans le milieu F/2 PROVASOLI.

jour	Nombre de cell/ml.10 ³	Log ₂ (nombre de cell/ml)
02/06/2011	2114	21,011
05/06/2011	2864	21,449
07/06/2011	3392	21,693
08/06/2011	4364	22,057
09/06/2011	4988	22,250
12/06/2011	5300	22,337
13/06/2011	6244	22,574
14/06/2011	6615	22,657
15/06/2011	7112	22,761
16/06/2011	7880	22,909
17/06/2011	8334	22,990
19/06/2011	9400	23,164
20/06/2011	9730	23,214
22/06/2011	12248	23,546
23/06/2011	12800	23,609
26/06/2011	15840	23,910
28/06/2011	16920	24,012

Annexe 06

Tableau 01: mensurations pour les géniteurs utilisés pour la reproduction

Genitures	LONGUEUR	LARGEUR	EPAISSEUR	POIDS TOTAL
1	31,34	17,86	11,62	2,545
2	24,44	18,94	12,42	4,016
3	26,58	14,92	11,04	2,603
4	29,64	15,6	10,68	2,623
5	41,52	24,44	16,52	6,4
6	29,94	16,48	11,72	2,642
7	34,38	18,04	12,62	3,52
8	34,48	17,76	11,68	3,56
9	35,68	18,84	12,06	3,783
10	32,64	18,28	14,08	4,187
11	35,42	20,06	15,48	5,331
12	38,58	21,86	14,58	6,144
13	30,78	16,52	11,26	2,417
14	33,16	17,88	13,6	4,116
15	43,48	23,98	13,12	6,556
16	39,72	20,98	14,08	5,936
17	30,2	16,52	11,9	3,086
18	36,16	19,68	30,42	4,843
19	35,82	19,66	12,76	4,689
20	40,52	22,24	14,48	6,104
21	37,54	19,04	13,88	4,958
22	28,56	16,34	10,22	2,51
23	29,84	16,32	11,16	2,937
24	27,68	14,72	10,22	2,109
25	28,08	14,68	10,76	2,295
26	34,56	18,22	11,08	3,641
27	24,12	11,96	8,88	1,317
28	39,2	21,58	13,04	4,949
29	30,64	14,98	10,88	2,754
30	32,74	18,36	10,14	2,511
31	38,3	21,12	14,1	5,386
32	29,62	15,46	10,02	1,933
33	35,68	20,02	14,12	4,324
34	34,28	18,9	12,08	3,074
35	33,46	17,62	10,74	3,18
36	28,08	15,12	9,96	2,126
37	32,76	17,64	12,86	3,862
38	40,28	22,26	14,78	5,182
39	31,22	17,46	11,2	2,599
moyenne	33,3620513	18,2651282	12,7241026	3,76276923

Annexe 07

Matériels utilisés pour l'induction de la ponte

- ✓ des bacs :
 - un pour l'eau froide (15C°).
 - un pour l'eau chaude (25C°).
 - un pour la récupération des géniteurs.

- ✓ Des récipients en plastique
- ✓ Un récipient pour recueillir les produits génitaux et faire la fécondation.
- ✓ Un thermostat pour chauffer l'eau.
- ✓ Un condensateur de froid, pour le refroidissement de l'eau.
- ✓ Une pipette pour les prélèvements.
- ✓ De l'eau de mer filtrée stérilisée et non filtrée.
- ✓ Un thermomètre
- ✓ Un microscope, cellule Malassez, lame et lamelle.
- ✓ Tamis de différents maillages (63µm, 100µm)