

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل  
École 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 et de Master en Sciences de la Mer  
Option : Aquaculture**

**Thème**

**Suivi d'un élevage ostréicole : Affinage des huîtres  
creuses *Crassostrea gigas* en présence de *Chlorella sp.***

Présenté par :

- **KACI Ferial.**
- **MANSOUR Soumia.**

Soutenu le 30 /09/2022, devant le jury composé de

M.Ait Saidi	Maître de conférences « classe A »	ENSSMAL	Président
Mme. MESLEM N.	Maître de conférences « classe B »	ENSSMAL	Promotrice
M. Hadjadji N.			Co-prompteur
M. Lerguioui H.	Maître de conférences « classe B »	ENSSMAL	Examineur
M. Grimes.S	Professeur	ENSSMAL	Examineur

**Année universitaire : 2022 - 2023**

## **DEDICACES**

*A Mes chers parents : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime,*

*le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous,*

*Ce travail est le fruit de vos nombreux sacrifices,*

*Je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots*

*que Dieu vous protège et vous garde pour nous.*

*A mes chères frères et sœurs,*

*A mes neveux Mouadh et Ahmed Yahia,*

*A mes nièces Miral, Aya et Lilyane,*

*A mon ange gardien : Sa patience, sa compréhension, sa capacité à me soutenir dans mes moments de stress ont été d'une valeur inestimable. Merci pour ton soutien et croyance en moi.*

*A ma binôme KACI Feriel et mes chères amies,*

*A tous ce qui participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**MANSOUR Soumia**

## **DEDICACES**

*Je dédie ce travail à la mémoire de mes grands parents Slimane KACEMI et Behidja GASMI. J'aurais souhaité voir la joie de ma réussite dans leurs yeux, mais le destin en a voulu autrement. Merci, pour votre soutien et vos prières.*

*Je dédie cette réussite à moi-même, qui ai travaillé très dur, veillé tard. Oui, c'est la fin de cinq années. Cela a été à la fois bon et mauvais mais et aujourd'hui c'est la fin de cela et le début d'une nouvelle vie. Merci à moi. Merci à moi. Je mérite le meilleur.*

*A mon amie Soumia MANSOUR, dans la lutte dans la joie et la tristesse depuis cinq ans, merci pour tout.*

*Cette réussite va tout particulièrement à ma sœur Sarah KACI, la sœur de mon âme et de la vie, qui m'a accompagné sur mon chemin, qui m'a soutenu financièrement et moralement, et qui a été témoin de mes moments d'échec et de réussite. Vous méritez davantage de remerciements.*

*Je dédie également ce travail à mes deux frères Fares KACI et Massinissa KACI.*

*Enfin, je dédie ce travail à ma tante Djihed KACEMI qui m'a toujours encouragé et motivé*

**KACI Ferial**

## Remerciements

En premier lieu, on remercie profondément Allah de nous avoir donné l'opportunité de mener à bout ce mémoire de Master et que seul par sa grâce, nos études furent accomplies.

En second lieu .Nous adressons-aussi nos plus sincères remerciements aux membres du jury, qui ont accepté de lire et d'évaluer notre modeste travail.

Nous tenons surtout à remercier de façon toute particulière notre promotrice N.MESLEM pour ses précieux conseils, sa disponibilité, sa patience, sa sincérité et son dévouement.

Nous remercions aussi Monsieur N.HADJADJI Responsable de la ferme des bivalves CULTMAR à Tipaza pour son soutien qui a bien voulu diriger notre travail.

Un grand merci également au personnel administratif et technique de la ferme aquacole CULTMAR.

Toute notre gratitude s'adresse aussi à Monsieur B. Guenachi qui a accepté de répondre à nos questions et de nous transmettre les informations nécessaires.

Nos remerciements vont également à la doctorante Rania AIOUAZE pour ses conseils, son aide, sa patience pour nous guider durant la réalisation de notre projet fin d'étude.

On exprime notre reconnaissance la plus cordiale à l'ensemble des ingénieurs à notre école Yousef, Ahmed, Amina, Noureddine .Et aussi au personnel administratif Moustapha, Mohamed, Hassan.

Nos grès se partagent à nos familles qui nous ont soutenus moralement, financièrement et avec prières tout le long du parcours .Nos amis avec leurs encouragements.

Nous voudrions aussi exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la finalisation de ce projet, nous citons ici nos professeurs et tout le personnel de notre école.

# Table des matières

Introduction .....	11
I. CHAPITRE 1 : GENERALITES .....	14
I.1 LES MICRO-ALGUES .....	15
I.1.1 Généralités sur les micro-algues .....	15
I.1.2 Système et modes de culture des micro-algues.....	16
I.1.3 ESPECE ETUDIEE .....	21
I.2 Le modèle biologique l’huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> .....	25
I.2.1 Taxonomie et répartition .....	25
I.2.2 Ecologie .....	28
I.2.3 Biologie .....	28
I.2.4 Caractéristiques nutritionnelles de l’huître creuse.....	29
I.2.5 Affinage .....	30
II. CHAPITRE 2 : MATHREILS ET METHODES.....	31
II.1 LA CULTURE DES MICRO-ALGUES.....	32
II.1.1 Matériel biologique .....	32
II.1.2 Préparation de la chambre de culture .....	32
II.1.3 Milieu de culture .....	32
II.1.4 Isolement et purification de la souche.....	36
II.1.5 Production de biomasse .....	40
II.1.6 Croissance de la souche <i>Chlorella</i> sp sous différentes conditions .....	44
II.1.7 La cinétique de croissance des micro-algues .....	45
I.1.1 La densité optique .....	45
II.1.8 La Biomasse .....	46
II.2 Affinage des huitres.....	47
II.2.1 Présentation de la ferme d’élevage CULTMARE .....	47
II.2.2 Matériel biologique .....	48
I.1.2 Biométrie .....	49
III. CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DESCUSSION.....	55
III.1 LA croissance des micro-algues.....	56
III.1.1 Résultats de la purification.....	56
III.1.2 Densité optique .....	57
III.1.3 Comptage cellulaires .....	58
III.1.4 Productivité en biomasse .....	59

III.1.5	Discussion.....	59
III.2	AFFINAGE DES HUITRES.....	61
III.2.1	Analyses biochimiques .....	62
III.2.2	Discussion.....	65
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	69
	ANNEXE I : Dénombrement cellulaire .....	72
	ANNEXE II : Formule de test Khi-2 et interprétation.....	73

## Liste des abréviations

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**NaCl** : Chlorure de sodium

**K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Sulfate de potassium

**CuSO<sub>4</sub>** : Sulfate de cuivre(II)

**TCA** : Acide trichloroacétique

**g/L/J** : gramme par litre par jour

**J** : Jour

**pH** : Le potentiel hydrogène

**μ** : Micro

**°C** : Degré Celsius

**%** : Pour cent

**nm** : Nanomètre

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**μg/L** : Microgramme par litre

**h**: Heure

**ENSSMAL** : Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et l'Aménagement de Littorale

**CNRDPA** : Centre nationale de la recherche de la pêche et l'aquaculture

**CULTEMAR** : CULTURE MARINE

## LISTES DES FIGURES

Figure I-1: Courbe de croissance d'une culture de micro-algues en mode batch (Tebbani, 2014) .....	
Figure I-2 : Représentation schématique d'un système de culture des micro-algues en mode continu (Tebbani, 2014). .....	
<b>Figure I-3</b> : Système raceway à double circuit <a href="https://www.wur.nl/en/Value-CreatioCooperation/AlgaePARC.htm">https://www.wur.nl/en/Value-CreatioCooperation/AlgaePARC.htm</a> . .....	
<b>Figure I-4</b> : Photobioréacteur tubulaire horizontale <a href="https://www.wur.nl/en/Value-CreatioCooperation/AlgaePARC.htm">https://www.wur.nl/en/Value-CreatioCooperation/AlgaePARC.htm</a> .....	
Figure I-5 : <i>Chlorella</i> sp (M.Beijerinck, 1890) (G x 40).....	
Figure I-6: <i>Crassostrea gigas</i> (CULTMARE). .....	
Figure I-7: Présentation générale du modèle d'étude, l'huître creuse <i>Crassostrea gigas</i> . .....	26
Figure I-8 : Production de <i>C. gigas</i> en Algérie (FAO, 2019). .....	28
Figure II-1: Chambre de culture au niveau du laboratoire d'aquaculture (ENSSMAL) .....	
Figure II-2 : Matériels utilisés pour l'échantillonnage et le transport d'eau de mer .....	33
Figure II-3: Filtration de l'eau de mer (ENSSMAL).....	
Figure II-4: Autoclave du laboratoire de microbiologie (ENSSMAL) .....	
Figure II-5: Préparation du milieu de culture (ENSSMAL).....	
Figure II-6: Composants du milieu Guillard f/2). .....	
Figure II-7 : Examen microscopique : A ; microscope optique OPTIKA B : observation au microscope optique (G×40) (ENSSMAL). .....	36
Figure II-8 : Microscope inversé trin oculaire de marque MOTIC AE3 (ENSSMAL).....	36
Figure II-9 : <i>Paramecium</i> sp, observation avec microscope inversé MOTIC AE4.....	37
Figure II-10 : <i>Chlorella</i> sp en milieu solide; (A) boîtes de Pétriensemencées et incubées (b) ensemencement par étalement. ....	
Figure II-11 : Souche de <i>chlorella</i> sp pure. ....	
Figure II-12: Evolution de la souche incubée du 1 <sup>er</sup> au 7 <sup>ème</sup> jours. ....	
Figure II-13: Contrôle de la souche dans l'armoire thermorégulatrice. ....	
Figure II-14 : Schéma du mini photobioréacteur à bullage d'air .....	41
Figure II-15 : Système de culture utilisé au cours de la production, (A) : Volume de 10L, .....	41
Figure II-16: Différentes étapes de production de <i>Chlorella</i> sp.....	
Figure II-17 : Mise en culture de la souche <i>Chlorella</i> sp .....	43
Figure II-18: Culture en deux modes de <i>chlorella</i> sp.....	
Figure II-19: (A) : Lame de Malassez ; (B) : quadrillage de la lame de Malassez observé .....	45
Figure II-20: Spectrophotomètre du laboratoire de Chimie (ENSSMAL). .....	
Figure II-21: Filtration algale ; (A) Membrane filtrante, (B) : Rampe de filtration.....	
Figure II-22: Ferme CULTMARE (Google earth; CULTMARE, 2023). .....	
Figure II-23: Situation géographique de la ferme conchylicole « CULTMARE » .....	
Figure II-24: Bacs d'élevage des huitres pour affinage.....	
Figure II-25: Extracteur Soxhlet ; (A) : Schéma d'extracteur soxhlet (El kalamouni, 2010), (B) : Appareil de Soxhlet (LBCM) .....	
Figure II-26 : Rota vapeur (Buchi, R-300) au niveau de laboratoire LBCM. ....	
Figure II-27 : Unité de distillation (Buchi) au niveau de laboratoire Biochimie.....	
Figure III-1: <i>Chlorella</i> sp; (A) : observation au microscope optique (G40), .....	56
Figure III-2 : Production hebdomadaire d'algues .....	56
Figure III-3 : Evolution de la densité optique de <i>Chlorella</i> sp.....	57
Figure III-4 : Croissance de <i>Chlorella</i> sp en modes mixotrophe et autotrophe.....	58

Figure III-5 : Teneurs en lipides des trois échantillons d'huitres .....	62
Figure III-6 : Teneur en protéine dans les trois échantillons d'huitres.....	63
<b>Figure III-7</b> : Taux de glycogène dans les trois échantillons d'huitres .....	64

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Taxonomie de <i>Chlorella</i> sp ( M.Beijerinck, 1890) (WoRMS - World Register of Marine Species - Chlorella M.Beijerinck, 1890, n.d.-a). .....	22
Tableau II : Liste des fermes conchycolles en Algérie (MPPH, In Kahla et karamane. 2021) .....	27
Tableau III : Teneurs de l'huître creuse en protéines, glucides et lipides. ....	30
Tableau IV : Composition du milieu de culture Guillard f/2 (Guillard et Ryther, 1963). ....	35
Tableau V : Les modes trophiques dans différentes conditions. ....	44
Tableau VI : Résultats de la productivité en biomasse de <i>Chlorella</i> sp en modes mixotrophe et autotrophe (Wi : la biomasse initiale et Wf : la biomasse finale).....	59
Tableau VII : Analyse de variance des paramètres biométriques après l'affinage des huitres. ....	61

## INTRODUCTION

La conchyliculture fait partie de l'aquaculture extensive. Elle concerne l'élevage de mollusques bivalves (moules, huîtres, palourdes,...) en milieu marin voire saumâtre à partir de naissains collectés sur des sites naturels ou produits en écloserie (**Lubet et al, 1999**).

L'ostréiculture (élevage des huîtres) constitue aujourd'hui la deuxième activité d'aquaculture dans le monde. Les statistiques de la FAO estime la production mondiale conchylicole des mollusques bivalves à 17.21 millions de tonnes avec une production de 6.5 millions de tonne d'huître creuse *Crassostrea gigas* en 2019 (**FAO, 2020**).

La Chine occupe une position prépondérante sur le marché mondial de l'huître, représentant 80% de la production totale. Vient ensuite la Corée du Sud, le Japon et les États-Unis. La France, bien qu'elle ne vienne qu'après ces pays, se positionne en tant que leader parmi les nations européennes, se rapprochant ainsi de la production américaine (**FAO, 2020**).

La répartition de *C. gigas* est mondiale et s'étend sur tous les continents excepté l'Antarctique, du Sud de l'Alaska jusqu'en Australie. Cette espèce représente un fort intérêt commercial et provient principalement de l'élevage (**Lafont, 2017**).

En raison de sa croissance rapide et sa grande tolérance aux conditions environnementales, *C.gigas* est devenue l'huître choisie pour la culture dans plusieurs régions du monde. Tandis que ses origines sont au Japon où elle a été cultivée pendant des siècles, l'huître creuse du Pacifique a été introduite pour remplacer les stocks d'huîtres indigènes épuisés par la surexploitation ou les maladies ou pour créer une industrie là où elle n'existait pas auparavant (**FAO, 2009**).

L'affinage, étape biologique cruciale dans le cycle d'élevage des huîtres, implique d'immerger les huîtres adultes dans des claires avant leur préparation pour la vente. L'objectif de cette phase d'affinage est de modifier les caractéristiques organoleptiques en les rendant meilleurs et d'améliorer la solidité des coquilles. L'importance de cette phase de l'élevage, tant sur le plan qualitatif que commercial, nécessite l'optimisation et la « fiabilisation » de la technique classique de finition des huîtres *Crassostrea gigas* (**Soletchnik, 1997**).

L'engraissement des huîtres dépend en grande partie de la densité des populations de micro algues dans laquelle elles se trouvent. Alternativement, les huîtres adultes peuvent être placées dans des claires, des bassins d'affinage, pendant les derniers mois avant leur commercialisation afin d'atteindre les qualités gustatives et le volume de chair appropriés. L'affinage correspond à

un séjour des huîtres dans une eau de mer dont la qualité est contrôlée en présence de micro-algues (**Calleja , 2011**).

Les micro-algues, essentielles au processus d'affinage, ont reçu beaucoup d'attention en raison de leurs avantages potentiels dans de nombreuses applications. Par conséquent, l'amélioration de leur biomasse, en régulant les facteurs environnementaux responsables de leur croissance, devient nécessaire pour une culture d'algues (**Khan et al, 2018**).

À partir des années 1950, *Chlorella vulgaris* et d'autres espèces d'algues ont été cultivées en quantités énormes pour répondre à la demande croissante de sources de protéines alternatives (**Görs et al, 2009**).

*Chlorella* sp est une micro-algue importante avec une bonne composition biomoléculaire. Commercialement, c'est l'une des micro-algues les plus couramment utilisées en aquaculture. Plusieurs études ont confirmé sa capacité à améliorer la nutrition, l'immunité, la biorestauration aquatique et l'amélioration du stress (**Ahmad et al, 2018**).

En Algérie, l'ostréiculture repose essentiellement sur la production d'huître creuse, *Crassostrea gigas* qui est une activité relativement récente. L'Affinage, dernière étape de la production ostréicole, n'a jamais été réalisé dans notre pays. Ce processus mérite de ce fait d'être réalisé, d'autant plus que sur le plan commercial, des huitres affinées sont plus chères (3800 DA) que celles non affinées (2400 Da).

La question que l'on peut se poser est la suivante : Pourrait-on améliorer la chair des huîtres, plus particulièrement leur valeur nutritive notamment en protéine, lipides et en glycogène et accentuer leur typicité, par *Chlorella* sp, afin de proposer au consommateur un produit de qualité ?

C'est pour répondre à cette question que nous avons réalisé cette étude qui a pour objectif la production de la chlorelle *Chlorella* sp et l'affinage des huîtres de *C. gigas*.

Le présent travail est subdivisé en plusieurs chapitres :

- Le premier chapitre présente les généralités sur les micro-algues spécialement *Chlorella* sp ainsi que le modèle biologique, l'huître creuse *Crassostrea gigas*,
- Le deuxième chapitre est consacré à la méthodologie expérimentale suivie au cours de ce mémoire, relative à la production de la micro-algue *chlorella* sp et au processus d'affinage des huîtres,
- Le troisième chapitre expose les résultats obtenus et leurs discussions,
- Enfin, une conclusion et des perspectives viennent terminer ce travail.

# **I. CHAPITRE 1 : GENERALITES**

## I.1 LES MICRO-ALGUES

### I.1.1 Généralités sur les micro-algues

Les micro-algues sont des organismes eucaryotes unicellulaires qui sont généralement photosynthétiques. Elles ont la capacité de capturer la lumière du soleil et par le biais de la photosynthèse, elles produisent environ la moitié de l'oxygène atmosphérique sur Terre. En conséquence, elles absorbent de grandes quantités de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) pour incorporer le carbone dans leur biomasse (**Lü et al, 2011**).

Les micro-algues sont présentes dans une variété d'environnements aquatiques, qu'il s'agisse de milieux marins ou d'eau douce. Elles suscitent un intérêt croissant dans le monde entier, car leur diversité offre de nombreuses possibilités de valorisation. Cependant, il convient de noter qu'à l'échelle industrielle, seules une dizaine d'espèces de micro-algues sont actuellement cultivées, avec une prédominance des espèces telles que *Chlorella*, *Dunaliella* et *Spirulina* (**Amor, 2015**).

Elles sont considérées comme des bioressources précieuses contenant différentes molécules intéressantes dont la plupart restent encore à être exploitées (**Rizwan et al, 2018**).

Selon **Perez-Garcia et al (2011)**, il existe trois types de conditions de cultures des micro-algues, l'autotrophie, l'hétérotrophie et la mixotrophie.

- L'autotrophie désigne la croissance des micro-algues qui utilisent exclusivement la lumière comme source d'énergie (on parle alors de photo-autotrophie) et le dioxyde de carbone dissous comme source de carbone inorganique.
- L'hétérotrophie correspond à la croissance des micro-algues en l'absence de lumière et dans des conditions aérobies. Dans ce mode de croissance, les micro-algues utilisent l'assimilation de substrats organiques présents dans le milieu de culture comme source de carbone et d'énergie.
- La mixotrophie est un mode de croissance où les micro-algues combinent à la fois l'énergie de la lumière et l'énergie provenant de substrats organiques.

## I.1.2 Système et modes de culture des micro-algues

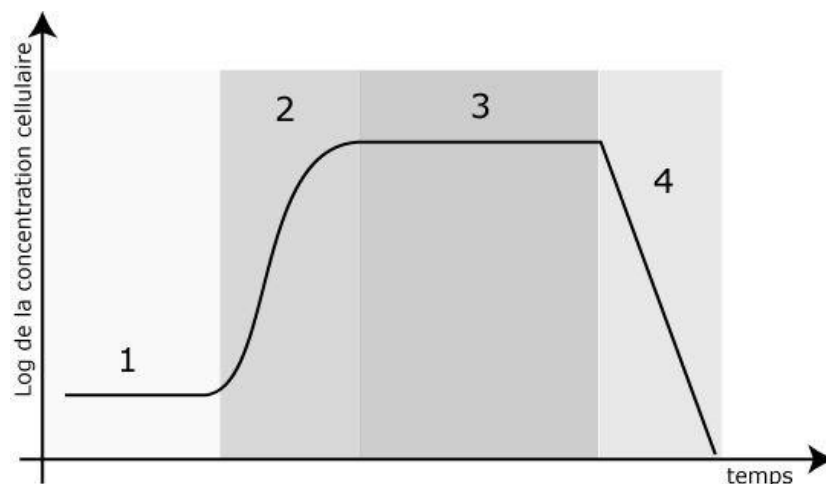
### I.1.2.1 Modes de culture (mode de vie)

La culture des micro-algues est similaire à celle des autres microorganismes tels que les bactéries. La particularité dans ce cas réside dans l'activité photosynthétique et donc l'apport nécessaire d'une énergie lumineuse suffisante.

Il existe principalement trois modes de production : discontinu ou dit batch, semi-continu et continu (Yaiche Achour, 2019).

#### I.1.2.1.1 Mode discontinu ou dit batch

La culture en batch est un mode de culture très utilisé pour sa simplicité de mise en œuvre et son faible coût en matériel et en maintenance (Chevanton, 2013). C'est un système fermé pour lequel est introduit en une seule fois, en début de culture, l'inoculum contenant les cellules des micro-algues ainsi que tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance. Il n'existe aucun échange d'éléments nutritifs ni de biomasse avec l'environnement extérieur pendant la culture. La concentration cellulaire augmente en fonction du temps jusqu'à épuisement du substrat limitant. Pour une culture en mode batch, la croissance des micro-algues suit une allure sigmoïde traduisant quatre phases principales (Figure I.1) (Tebbani, 2014).



**Figure I-1:** Courbe de croissance d'une culture de micro-algues en mode batch (Tebbani, 2014)

**1. Phase de latence** : Pendant cette période, les cellules s'adaptent aux nouvelles conditions environnementales. La vitesse de croissance est nulle, et la durée de cette phase dépend de facteurs tels que l'inoculum (quantité initiale de cellules), le milieu de culture et la capacité d'adaptation de l'espèce cultivée aux nouvelles conditions.

**2. Phase exponentielle (ou logarithmique)** : Au cours de cette phase, les cellules se multiplient rapidement jusqu'à atteindre leur taux de croissance maximal. Les facteurs de croissance ne limitent pas la prolifération des cellules à ce stade.

**3. Phase stationnaire** : Cette phase survient lorsque le substrat essentiel à la croissance devient limitant, ce qui peut être dû à l'épuisement des nutriments ou à une concentration cellulaire élevée. Le manque de lumière peut également jouer un rôle, par exemple dans les photobioréacteurs où la formation de bio film sur les parois entraîne un auto-ombrage des cellules. La concentration cellulaire reste constante et atteint un maximum.

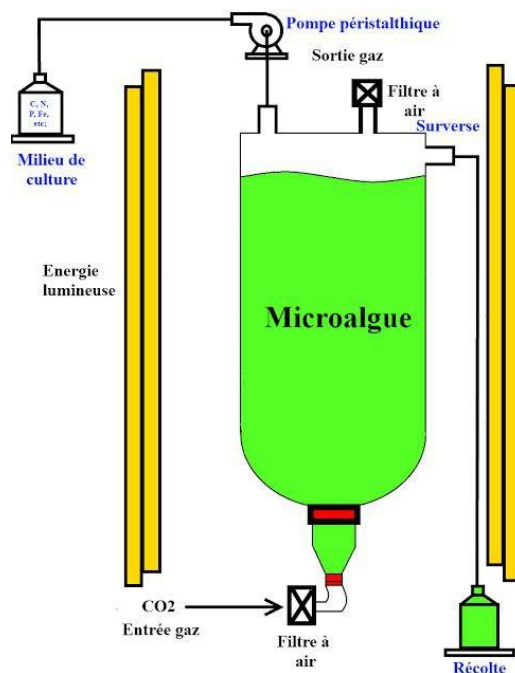
**4. Phase de déclin** : À ce stade, toutes les réserves intracellulaires sont épuisées, et les conditions deviennent extrêmement défavorables, ce qui entraîne la mort cellulaire.

#### **I.1.2.1.2 Mode semi-continu**

Ce mode de culture se distingue par l'introduction du milieu au fur et à mesure de la culture, jusqu'à atteindre le volume final souhaité. Au lancement de la culture, le photobioréacteur n'est que partiellement rempli et le milieu neuf est apporté au fur et à mesure du développement des cellules. La culture est généralement terminée quand le photobioréacteur est plein. Ce mode permet d'optimiser la productivité de la biomasse et d'éviter une inhibition par la limitation en nutriments (**Yaiche Achour, 2019**).

#### **I.1.2.1.3 Mode continu**

La culture en continue permet la récolte en permanence de la biomasse et le renouvellement en continu du milieu de culture. Dans ce mode, la culture est réalisée à volume constant. La charge introduite dans le photobioréacteur est équivalente au volume retiré (**Yaiche Achour, 2019**) (**Figure I.2**).



**Figure I-2** : Représentation schématique d'un système de culture des micro-algues en mode continu (Tebbani, 2014).

## I.1.2.2 Systèmes de culture des micro-algues

### I.1.2.2.1 Culture en milieu ouvert: bassin de type "raceway"

Les cultures d'algues à l'air libre représentent 10000 tonnes par an de matière sèche. A grande échelle, la production de masse se fait principalement à l'aide de bassins de type «raceway» (**Figure I.3**) de toutes tailles (entre 1000 et 5000m<sup>2</sup>), en eau douce ou salée. Ils sont constitués de bassins clos, de quelques dizaines de cm de profondeur, circulaires ou formant des boucles imbriquées les une contre les autres. La principale contrainte est le risque de la contamination par d'autres microorganismes tels que les bactéries (Yaiche Achour, 2019).



**Figure I-3** : Système raceway à double circuit <https://www.wur.nl/en/Value-CreatioCooperation/AlgaePARC.htm>.

### I.1.2.2.2 Photobioréacteur

Les micro-algues peuvent être également cultivées en bioréacteurs (enceintes dans lesquelles se déroulent des interactions biologiques, utilisées pour la production de biomasse d'un métabolite, pour la conversion d'une molécule). Dans le cas des algues, on utilise des photobioréacteurs, construits dans des matériaux transparents laissant passer la lumière et autorisant les réactions de photosynthèse. L'éclairage se fait à partir de la lumière solaire ou artificielle avec des tubes fluorescents. Il peut être optimisé avec un certain angle d'inclinaison du réacteur (**Jack Legrand et al, 2002**).

Les photobioréacteurs peuvent avoir diverses formes géométriques (**Figure I.4**) plates, tubulaires, gaines en plastique, verticales ou spirales (**Tebbani, 2014**).



**Figure I-4 :** Photobioréacteur tubulaire horizontale <https://www.wur.nl/en/Value-CreatioCooperation/AlgaePARC.htm>

### **I.1.2.3 Applications des micro-algues**

Les micro-algues se révèlent très prometteuses pour de nombreuses applications dans des domaines variés tels que ; l'industrie pharmaceutique, l'agro-alimentaire l'environnement et les énergies renouvelables. Les principales utilisations sont détaillées comme suite :

#### **- Application en aquaculture**

Les micro-algues jouent un rôle nutritionnel crucial en aquaculture. La plupart des invertébrés marins dépendent des micro-algues pendant tout leur cycle de vie. Les micro-algues sont utilisées comme aliments vivants pour tous les stades de croissance des mollusques bivalves, pour les stades larvaires juvéniles des ormeaux, des crustacés et de certaines espèces de poissons. Les micro-algues sont aussi utilisées pour le zooplancton utilisé dans les réseaux trophiques aquacoles (**Kaparapu, 2018**). Les principales applications des micro-algues en aquaculture sont associées à la nutrition en tant que composant unique ou en tant qu'additif alimentaire aux nutriments de base et pour induire d'autres activités biologiques. Les espèces les plus fréquemment utilisées sont *Chlorella*, *Tétrahelminis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*. La combinaison de différentes espèces d'algues fournit une nutrition équilibrée et améliore la croissance des animaux mieux qu'un régime composé de seulement une espèce d'algue (**Spolaore et coll., 2006**).

#### **- Domaine énergétique**

L'exploitation des micro-algues dans le domaine des bioénergies représente un fort potentiel, surtout si l'on considère la raréfaction des énergies fossiles. Ces micro-algues accumulent de manière importante des composés carbonés utilisables comme carburant après extraction. Le rendement de production des acides gras à l'hectare pour la production de bioénergie peut être 30 fois supérieur chez les micro-algues par rapport aux plantes supérieures oléagineuses (**Cadoret et Bernard, 2008**).

#### **- Industries pharmaceutiques**

Les micro-algues sont une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans la formulation de nouveaux médicaments. Ces molécules ne sont pas faciles à synthétiser en utilisant des méthodes chimiques. Plusieurs micro-algues sont capables de

produire différents types de molécules à effet antimicrobien. Elles peuvent produire également plusieurs composés hépatotoxiques et neurotoxiques (**Rizwan et al, 2018**).

#### - **Nutrition humaine et industries agro-alimentaires**

La nutrition humaine représente la première voie de commercialisation des micro-algues. Ces dernières peuvent être utilisées comme compléments alimentaires pour leurs richesses en protéines, vitamines et sels minéraux (**Tarento et al, 2018**). Elles sont considérées comme une source potentielle d'acides gras polyinsaturés (AGPI). Ces derniers sont utilisés en nutrition humaine pour leurs vertus thérapeutiques (**Gheysen et al, 2018**).

Les polysaccharides issus des micro-algues sont exploités dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'agent gélifiants ou épaississants. Le glycérol (molécule intervenant dans les systèmes d'osmorégulations des micro-algues), est exploité dans l'agroalimentaire comme édulcorant (**Yaiche Achour, 2019**).

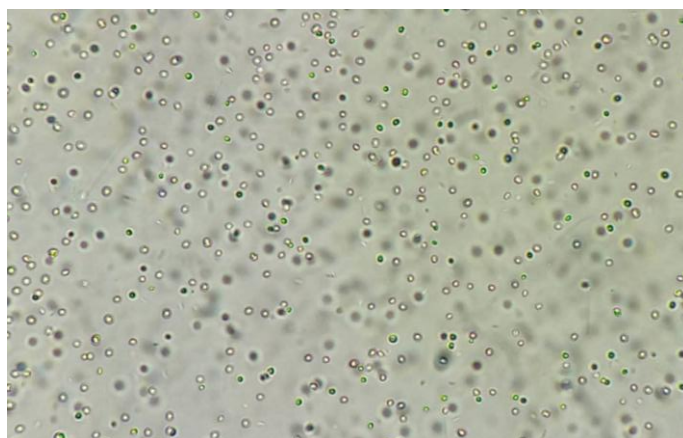
### **I.1.3 ESPECE ETUDIEE**

#### **I.1.3.1 Généralités sur *Chlorella* sp**

La chlorelle est une algue verte unicellulaire (**Watanabe et al, 2020**) (**Figure I.5**) qui est facilement cultivable. Elle contient environ 20 % de lipides dans sa biomasse sèche (Scarsella et al, 2010). C'est également la micro-algue la plus populaire sur le marché et est souvent choisie en raison de sa teneur élevée en caroténoïdes et pour sa capacité à se développer dans une grande variété de conditions climatiques (Gors et al, 2009). *Chlorella* a une teneur élevée d'environ 51 % à 58 % de protéines, 12 % à 17 % de glucides et 14 % à 22 % de lipides (calculés en pourcentage de matière sèche). Plus important encore, son taux de croissance et sa production de biomasse dépendent largement des facteurs environnementaux (**Spolaore et al, 2006**). C'est pourquoi, elles sont couramment utilisées pour la préparation de compléments alimentaires, ainsi que pour la production de cosmétiques, de traitements cliniques et même pour la détoxification des métaux lourds dans les eaux usées (**Coronado-Reyes et al, 2022**).

**Tableau I : Taxonomie de *Chlorella* sp ( M.Beijerinck, 1890) (WoRMS - World Register of Marine Species - *Chlorella* M.Beijerinck, 1890, n.d.-a).**

Classification scientifique	
Phylum	Chlorophyta
Classe	Trebouxiophyceae
Ordre	Chlorellales
Famille	Chlorellaceae
Genre	<i>Chlorella</i> ( M.Beijerinck, 1890).



**Figure I-5 : *Chlorella* sp (M.Beijerinck, 1890) (G x 40).**

### **I.1.3.2 Facteurs influençant la culture des micro-algues**

L'efficacité de la culture des micro-algues dépend de nombreux paramètres environnementaux, à la fois physiques et biologiques. Ces paramètres sont liés aux caractéristiques propres à l'espèce. Ils influencent non seulement l'activité photosynthétique et la productivité en biomasse, mais également le comportement physiologique et métabolique des micro-algues (Coronado-Reyes et al, 2022).

*Chlorella* sp a été identifiée comme une espèce de micro-algue permettant d'obtenir des rendements élevés en métabolites primaires et secondaires. Cependant, il a été observé qu'en

raison de son adaptabilité, elle peut réagir différemment lorsqu'elle est exposée à différents facteurs pendant sa croissance. C'est pourquoi, les facteurs évalués jusqu'à présent et leur influence sur la croissance des micro-algues ont été étudiés (**Coronado-Reyes et al, 2022**).

- **La lumière**

En tant qu'organismes photosynthétiques, les micro-algues sont fortement influencées par la lumière, qui est essentielle pour la production et l'efficacité de la photosynthèse. L'intensité lumineuse joue un rôle crucial dans ce processus. Lorsque les micro-algues n'ont pas accès à des sources de carbone organique, la lumière devient leur principale source d'énergie avec une valeur qui varie de 465 à 499 nm (**Coronado-Reyes et al, 2022**).

- **Température**

*Chlorella* sp ont une plage de température optimale pour leur croissance qui se situe entre 28 et 35 °C. En dessous de cette plage de température, les micro-algues ne peuvent pas se développer car leur système métabolique est ralenti, voire arrêté. Elles ont besoin d'une température adéquate pour maintenir leurs processus métaboliques actifs. D'un autre côté, lorsque la température dépasse la plage optimale, les micro-algues entrent dans un état de stress thermique. Leur respiration augmente et elles commencent à fixer l'oxygène (O<sub>2</sub>) plutôt que le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) par le processus de photosynthèse. Cela réduit la production de métabolites primaires et secondaires, qui sont des composés biochimiques essentiels et d'intérêt pour diverses applications (**Coronado-Reyes et al, 2022**).

- **L'oxygène**

Lors de la photosynthèse, une partie des produits générés est l'oxygène. Il a été observé que la concentration d'oxygène dans le milieu peut augmenter de 200% à 300%. Cependant, cette augmentation peut avoir un impact significatif sur la production de biomasse et de métabolites, car les micro-algues peuvent passer d'un processus de photosynthèse à un processus de respiration, comme mentionné précédemment. Cela peut entraîner l'arrêt de la production des molécules d'intérêt (**Coronado-Reyes et al, 2022**).

- **Les nutriments**

L'azote est le nutriment essentiel dont les micro-algues ont principalement besoin pour leur croissance. Il joue un rôle crucial dans la formation du matériel génétique, des protéines et même des lipides. Les micro-algues peuvent fixer l'azote à partir de deux molécules différentes :

les nitrates ou l'ammoniac, qui leur fournissent la source d'azote nécessaire à leurs processus métaboliques.

Dans le cas d'un milieu de culture photohétérotrophe, il est possible d'inclure des glucides dans le milieu. Ces glucides serviront de sources de carbone pour les micro-algues, en complément du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), favorisant ainsi leur croissance (**Coronado-Reyes et al, 2022**).

Il est essentiel de prendre en compte chaque facteur pour déterminer les conditions optimales de croissance des micro-algues et plus important encore, pour atteindre les rendements de biomasse souhaités.

## I.2 Le modèle biologique l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

### I.2.1 Taxonomie et répartition

L'huître creuse *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1973) (Figure I.6) est un mollusque bivalve de la famille des *Ostreidae* (Figure I.7) originaire du Nord-Ouest du Pacifique. C'est une espèce peuplant les écosystèmes marins. Elle est emblématique de la réussite économique aquacole du siècle dernier. Cet invertébré marin a une origine évolutive très ancienne de 500 millions d'année. *C.gigas* est un animal euryhalin et eurytherme, c'est-à-dire qu'il est capable de vivre dans des conditions de salinité et de température très variables. L'huître est en effet soumise quotidiennement à de grandes variations de son environnement, au rythme des marées, car elle vit fixée dans la zone côtière qui se découvre avec les marées (l'estran). Cette espèce a fait l'objet de nombreuses introductions à travers le monde, remplaçant ainsi les stocks d'huîtres indigènes épuisés par la surexploitation ou les maladies (Acosta, 2010).



Figure I-6: *Crassostrea gigas* (CULTMARE).

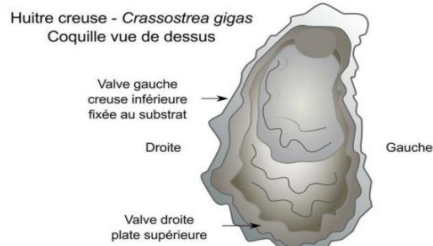
## L'huître creuse *Crassostrea gigas*

### Classification

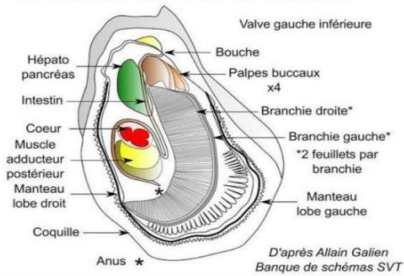
Règne: *Animalia*  
 Embranchement: *Mollusca*  
 Classe: *Bivalvia*  
 Sous-classe: *Pteriomorphia*  
 Ordre: *Ostreoida*  
 Famille: *Ostreidae*  
 Genre: *Ostrea*  
 Nom binomial: *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793).

### Anatomie

#### MORPHOLOGIE DE L'HUITRE CREUSE



#### ANATOMIE DE L'HUITRE CREUSE



Source: Thizeau, V. (2021).

### Habitat et biologie

**Habitat:** zone intertidale: substrats rocheux, structures ostréicoles laissées à l'abandon ou infrastructures marines (cale, jetée), substrats meubles (fonds vaseux et sablo-vaseux). Ces organismes hétéothermes ou ectothermes, supportent une large gamme de salinité et de température, les optima se situant entre 20 et 25 pour la salinité et entre 15 et 25°C pour la température (Acosta, A. L. 2010).

**Le système nerveux :** L'huître a un système nerveux peu développé comprenant une paire de cellules nerveuses agrégées près de la bouche et une autre plus grande sous le muscle adducteur (Marteil, L. 1976).

**Système circulatoire:** Comme les autres bivalves, l'huître possède un cœur, des artères, des veines et de larges sinus. Le sang de l'huître est incolore et constitué de deux groupes de cellules, les cellules hyalines et les cellules granuleuses (Marteil, L. 1976).

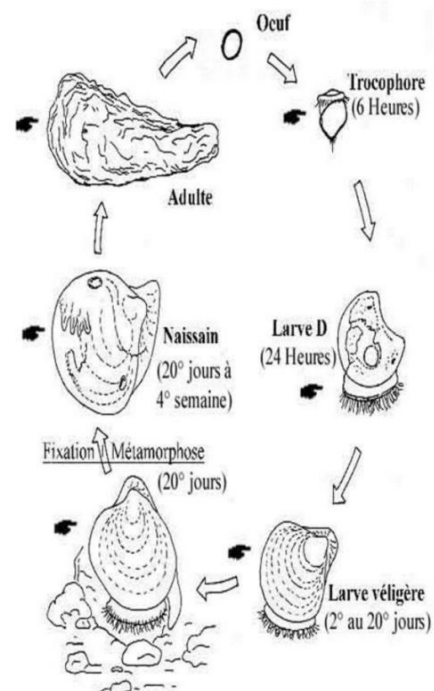
**Régime alimentaire:** organisme suspensivore (se nourrit de particules en suspension) qui filtre jusqu'à plusieurs litres d'eau de mer par heure et absorbe les organismes planctoniques, notamment les algues phytoplanctoniques, sources de nourriture, retenus par les cils sur les branchies ou enrobés de mucus et transportés vers la bouche

(Acosta, A. L. 2010).

**Reproduction:** hermaphrodite protandre (mâle la première année puis change de sexe). Sur les côtes atlantiques, la reproduction a lieu en été. La ponte des œufs par les femelles a lieu une ou plusieurs fois par été lorsque la température de l'eau est supérieure à 18°C. La fécondation est externe. Les larves vont dériver avec la masse d'eau pendant environ trois semaines avant de se métamorphoser en jeunes individus, et se fixer sur le substrat. A ce stade, ils sont appelés naissai

(Acosta, A. L. 2010).

### Cycle de vie de *C. gigas*



Source : vendee.naissain.pagesperso-orange.fr

Figure I-7: Présentation générale du modèle d'étude, l'huître creuse *Crassostrea gigas*.

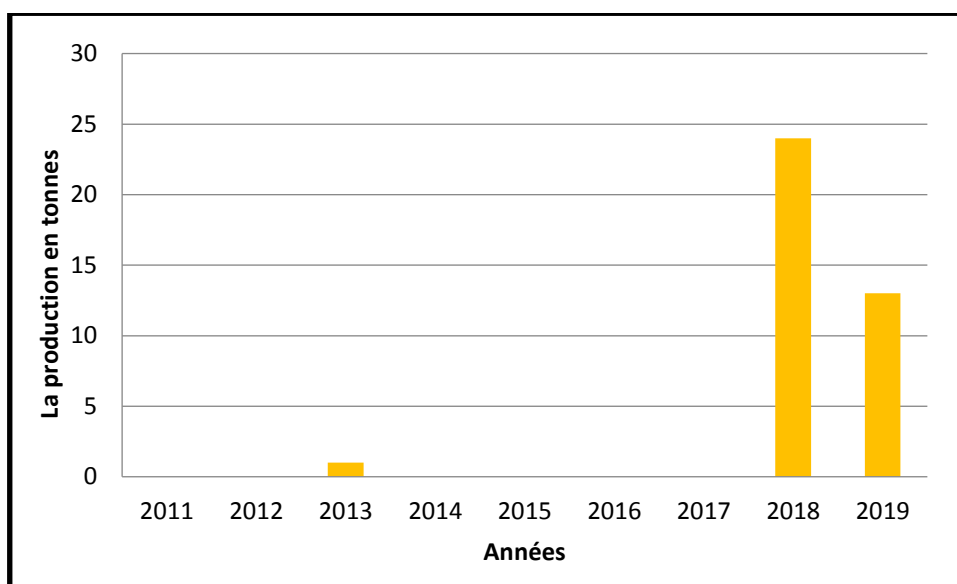
- **Production de *C. Gigas* en Algérie**

La plupart des fermes conchylicoles en Algérie se spécialisent dans l'élevage de deux espèces de mollusques bivalves : la moule méditerranéenne (*Mytilus galloprovincialis*) et l'huître creuse (*Crassostrea gigas*) (MPPH, In Kahla et Karamane. 2021).

**Tableau II : Liste des fermes conchylicoles en Algérie (MPPH, In Kahla et karamane. 2021)**

Wilaya	Dénomination du projet	Espèces élevées
Alger	SARL Orca marine	Moule et huitre
Tipaza	CULTURES MARINES SPA	Moule et huitre
Boumerdes	DERRADJ	Moule
Ain Timouchent	SARL AQUATIC TINA MARINE	Moule et huitre
	SARL Vivrière Ouest	Moule
Tizi Ouzou	SARADOUNI Ilyes	Moule et huitre
	OUARAB Djamel	Moule
	DACI Mouhamed	Moule
Oran	SARL AQYAOARC PECHE	Moule et huitre
Mostaganem	SARL Aqua Company	Moule et huitre

Comme le montre la figure 8, la production de l'huître creuse *C.gigas* à ce jour n'est pas vaste, comme c'est le cas en 2018 où il a été enregistré environ 24 tonnes.



**Figure I-8 : Production de *C. gigas* en Algérie (FAO, 2019).**

## **I.2.2 Ecologie**

*Crassostrea gigas* habite préférentiellement dans les substrats rocheux sur lesquels elle peut se fixer, mais peut habiter également sur les substrats meubles tels que les vasières et peut être cultivée en pleine eau, jusqu'à 40 mètres de profondeur. Il s'agit d'un organisme bivalve poïkilotherme, euryhalin et eurytherme, avec des optima de salinité entre 22 et 25, et des optima de température entre 15 et 25°C (Acosta, 2010).

## **I.2.3 Biologie**

L'huître creuse *C. gigas* est constituée d'un corps mou, protégé par une coquille à deux valves asymétriques, avec une valve (inférieure) gauche, profondément creuse et une valve (supérieure) droite, plate ou légèrement relié à la coquille par le manteau qui la sécrète et par le muscle adducteur qui l'attache aux deux valves. Il comprend différents organes correspondant aux fonctions physiologiques de la respiration, de la digestion etc. (Marteil, 1976).

### **I.2.3.1 Les systèmes circulatoire, nerveux, respiratoire et digestif**

Le système circulatoire est semi-ouvert. L'hémolymphe est propulsée par le ventricule et collectée par des sinus, épurée par le rein puis circule dans les branchies par les vaisseaux afférents et en repart, après hématoxyse, par les vaisseaux efférents jusqu'aux oreillettes.

Le système nerveux, symétrique par rapport au plan sagittal, est constitué de ganglions. Les sécrétions sont de type aminergique (sérotonine, dopamine) et peptidergique.

Le système respiratoire est localisé au niveau des branchies. L'huître ne possède pas d'hémocyanine ou d'hémoglobine. L'oxygène dissous dans l'eau de mer est alors extrait et transporté sous forme dissoute dans l'hémolymphe, des branchies vers les organes.

Les branchies assurent également les fonctions de nutrition. *C. gigas* est un organisme suspensivore et la filtration de 25 à 150 litres d'eau par jour assure la capture puis le triage des particules alimentaires (organismes planctoniques et principalement algues phytoplanctoniques) qui sont dirigées vers la bouche. Les particules de taille supérieure à 10µm sont englobées de mucus et rejetées sous la forme de pseudo-fèces. Les branchies participent ainsi à l'excrétion de certains déchets. *C. gigas* peut aussi absorber des substances dissoutes présentes dans l'eau de mer par pinocytose (lipides).

#### **I.2.4 Caractéristiques nutritionnelles de l'huître creuse**

En tant qu'aliment, l'huître creuse est sans gluten, ce qui la rend appropriée pour les personnes atteintes de la maladie cœliaque, une intolérance au gluten, ainsi que pour les personnes sensibles au gluten. De manière plus générale, toute personne souffrant de problèmes de perméabilité intestinale pourrait bénéficier d'un régime sans gluten.

De plus, l'huître ne contient pas de produits laitiers, ce qui la rend adaptée aux personnes intolérantes au lactose. L'intolérance au lactose est due à un déficit en lactase, l'enzyme nécessaire à la digestion du lactose présent dans le lait maternel. La production de lactase diminue généralement avec l'âge, ce qui explique que de nombreuses personnes adultes rencontrent des difficultés à digérer le lactose. Le lactose est un sucre appartenant à la famille des FODMAPs (Fermentable Oligo-, Di-, and Monosaccharides, and Polyols), ce qui signifie qu'il peut fermenter dans le système intestinal en cas de digestion incomplète, entraînant des troubles digestifs tels que l'inconfort, les gaz ou les diarrhées.

En résumé, l'huître convient aux personnes intolérantes au gluten, sensibles au gluten et intolérantes au lactose, offrant ainsi une option alimentaire adaptée à leurs besoins spécifiques.

**Tableau III** : Teneurs de l'huître creuse en protéines, glucides et lipides.

Nutriments	Teneur pour 100g
Lipides	1.91g
Protéines	8.64g
Glucide	3.86g
Alcool	0g
Eau	83.8g

[\[https://www.laurentberta.com/aliment/viandes-oeufs-poissons/mollusques-crustaces-crus/huitre-creuse-crue\]](https://www.laurentberta.com/aliment/viandes-oeufs-poissons/mollusques-crustaces-crus/huitre-creuse-crue)

### **I.2.5 Affinage**

Les huîtres peuvent atteindre une taille importante sans pour autant être considérées comme des produits de qualité. La croissance de l'huître et l'engraissement de sa chair ne sont pas nécessairement simultanés. Une étape supplémentaire est souvent nécessaire pour accumuler les réserves alimentaires nécessaires à son engraissement. Cette étape est appelée l'affinage.

L'engraissement des huîtres dépend en grande partie de la densité de populations dans laquelle elles se trouvent. Alternativement, les huîtres adultes peuvent être placées dans des claires, des bassins d'affinage, pendant les derniers mois avant leur commercialisation afin d'atteindre les qualités gustatives et le volume de chair appropriés.

L'affinage des huîtres permet d'obtenir un produit de forme homogène, avec une chair présente en quantité suffisante, qui est translucide à blanche, parfois teintée de vert. Les huîtres affinées ont une agréable odeur marine, un goût affiné et équilibré (salé puis sucré), une consistance molle à légèrement ferme et une longueur en bouche satisfaisante.

L'affinage peut être réalisé en eau libre ou dans des bassins d'affinage. Dans ce processus, les huîtres sont placées dans de l'eau de mer contenant des micro-algues sélectionnées, riches en acides gras polyinsaturés et/ou en caroténoïdes. Ces substances sont fixées dans les tissus des mollusques, ce qui contribue à améliorer leurs qualités organoleptiques.

Il est important de noter que l'objectif principal de l'affinage est d'améliorer les caractéristiques gustatives des huîtres et de renforcer leur typicité (Calleja,2011)

## **II. CHAPITRE 2 : MATHREILS ET METHODES**

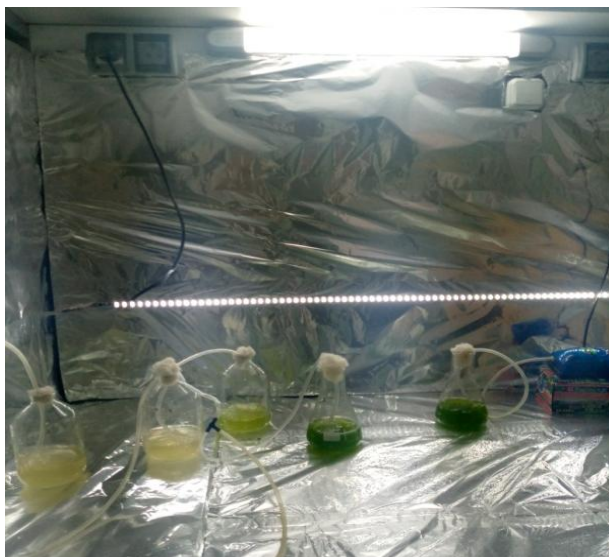
## II.1 LA CULTURE DES MICRO-ALGUES

### II.1.1 Matériel biologique

L'affinage des huitres nécessite la production de micro algues. Celle utilisée dans notre expérience est *Chlorella* sp. Cette étape a été réalisée à l'ENSSMAL, au niveau des laboratoires d'aquaculture, LBCM 1, LBCM 2, LCP1.

### II.1.2 Préparation de la chambre de culture

Une chambre de culture (**Figure II.1-1**) a été confectionnée et placée au niveau du laboratoire d'aquaculture. Cette chambre est équipée de quatre néons de lumière blanche artificielle LED à 24 W (fonctionnant 24h/24h) et de quatre oxygénateurs pour agiter et alimenter notre souche. L'intérieure de la chambre a été recouvert de papier aluminium pour réunir tous les rayons lumineux.



**Figure II-1:** Chambre de culture au niveau du laboratoire d'aquaculture (ENSSMAL)

### II.1.3 Milieu de culture

#### II.1.3.1 Echantillonnage de l'eau de mer

L'eau de mer utilisée est prélevée au niveau de la plage de Kouali à Tipaza. Un échantillon de 60 L a été rempli dans quatre jerricans en plastique de 20 litres (**Figure II.1-2**).



**Figure II-2 :** Matériels utilisés pour l'échantillonnage et le transport d'eau de mer

## II.1.3.2 Traitement de l'eau

### II.1.3.2.1 Filtration

La filtration de l'eau de mer a été faite à l'aide d'un papier Whatman ( $1\mu$ ) pour éliminer toutes les matières en suspension (**Figure II.1-3**).



**Figure II-3:** Filtration de l'eau de mer (ENSSMAL)

### II.1.3.2.2 Stérilisation

Pour éliminer tout ce qui est vivant (micro-algues, bactéries, zooplanctons), l'eau filtrée a été autoclavée dans un autoclave de marque SANO CLAV (**Figure II-4**) pendant 20 min à 120°C.



**Figure II-4:** Autoclave du laboratoire de microbiologie (ENSSMAL)

### II.1.3.2.3 Préparation du milieu Guillard f/2

Dans ce travail, le milieu de culture utilisé, est le milieu Guillard f/2 (Guillard et Ryther, 1963). C'est un milieu commun, largement utilisé pour la croissance des micro-algues (**tableau IV**).

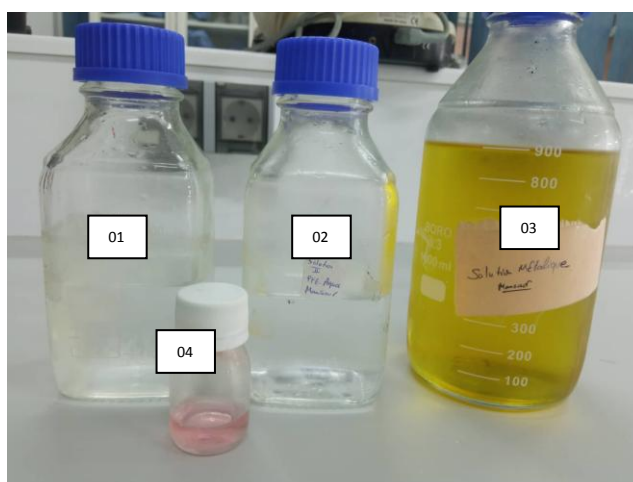


**Figure II-5:** Préparation du milieu de culture (ENSSMAL)

**Tableau IV :** Composition du milieu de culture Guillard f/2 (Guillard et Ryther, 1963).

Volume	Composé	Concentration de la solution stock (stérile)
1mL	(NaNO <sub>3</sub> )	75g/L
1mL	(NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	5g/L
1mL	Solution Métallique.	NA <sub>2</sub> EDTA : 4,16 g/L FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O : 3,15 g/L CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O : 0,01 g/L ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O : 0,022 g/L CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O : 0,01 g/L MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O : 0,018 g/L Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O : 0,006 g/L
0.5mL	Vitamines	Vitamine B1 : 0.2g/L Vitamine B12 : 0.1g/L Vitamine H : 0.01g/l

**Note :** pour l'obtention du milieu solide, 20g/L d'agar sont ajouté au milieu.



**Figure II-6:** Composants du milieu Guillard f/2).

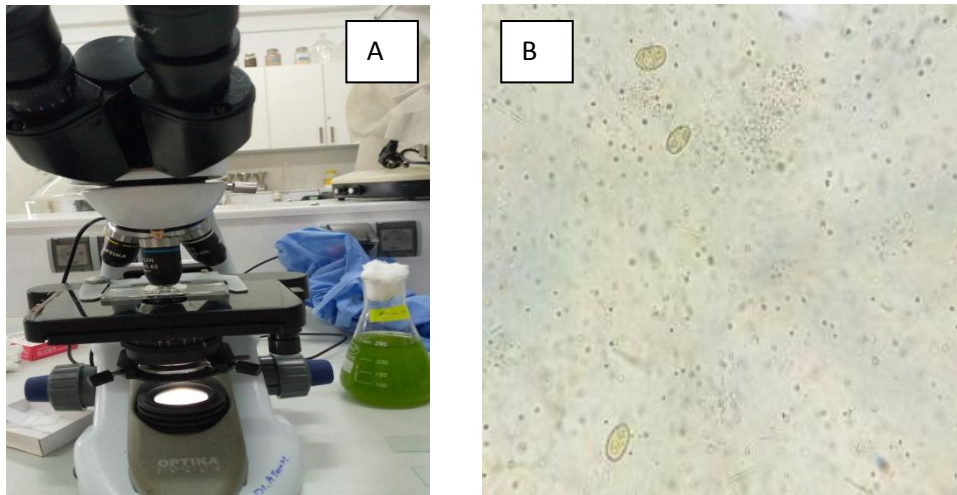
1. Solution stock de Nitrate de sodium (NaNO<sub>3</sub>),
2. Solution stock de Dihydrogénophosphate de sodium (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>),
3. Solution stock de Métaux traces,
4. Solution stock Vitamines.

## II.1.4 Isolement et purification de la souche

### II.1.4.1 Identification

Avant la mise en culture de notre souche, A l'aide d'un microscope optique (**Figure II.1-7**) (grossissement  $\times 40$ ) **OPTIKA**, un examen microscopique est réalisé pour vérifier la pureté de la souche d'algue.

L'échantillon n'est pas pur (y'avait d'autre micro-organisme)



**Figure II-7** : Examen microscopique : **A** ; microscope optique **OPTIKA** **B** : observation au microscope optique ( $G \times 40$ ) (ENSSMAL).

L'identification de micro-organismes a été réalisée par observation des caractères phénotypiques d'individu au microscope inversé trin oculaire de marque MOTIC AE3 (**Figure II.1-8**), un outil communément utilisé en taxonomie.

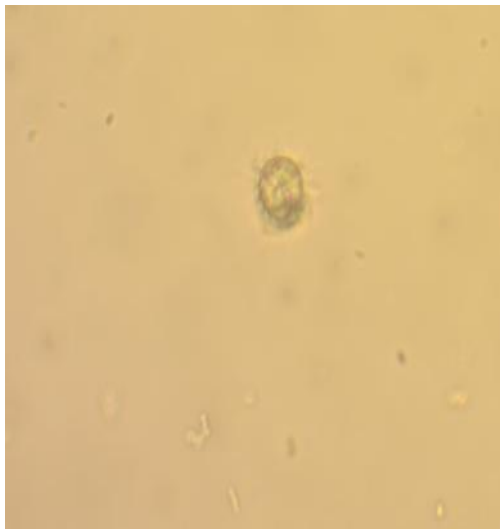


**Figure II-8** : Microscope inversé trin oculaire de marque MOTIC AE3 (ENSSMAL).

- **Préparation de l'échantillon en Microscope inversé :**

La première étape consiste à fixer l'échantillon. Il est nécessaire de l'incuber dans les chambres de sédimentations (cuves) de 25 ml. Le temps de sédimentation est de 12 heures avec quelques gouttes de lugole. L'échantillon ainsi préparé est prêt à être observé au microscope inversé.

Après l'identification on a pu classer l'espèce en genre *Paramecium*, (Figure II.1-9).



**Figure II-9 :** *Paramecium* sp, observation avec microscope inversé MOTIC AE4.

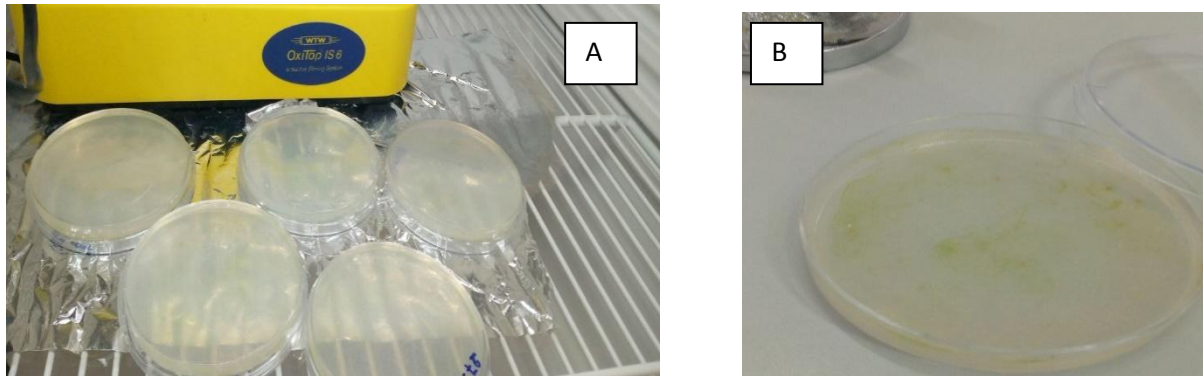
#### **II.1.4.2 Isolement de la souche *Chorella* sp.**

Le milieu de culture Guillard f/2 gélosé a été utilisé pour l'isolement de *chlorella* sp. Le milieu de culture est stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Une fois refroidi à environ 50°C, 15 à 20 mL du milieu encore liquide sont coulés dans des boîtes de pétri dans une zone stérile auprès de becs bunsen. Après solidification du milieu gélosé, les boites de Pétri sont utilisées pour l'ensemencement.

Ensemencement en surface par étalement :

- Déposer 100 µl de la souche à la surface du milieu de culture coulé et solidifié,
- Constituer un râteau à l'aide d'une pipette Pasteur,
- Etaler la goutte de la souche par ce râteau, puis incuber.

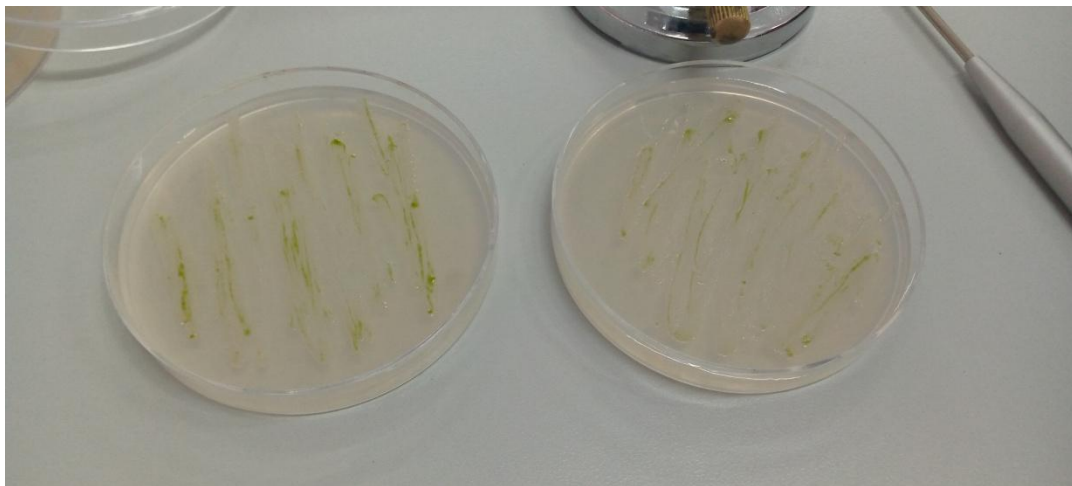
Les boîtes de Pétriensemencées sont incubées à 24°C sous une intensité lumineuse 5000 Lux et une photopériode de 24h (**Figure II.1-10**). Les boîtes sont maintenues sous ces conditions pendant quatre semaines.



**Figure II-10 :** *Chlorella* sp en milieu solide; (A) boîtes de Pétriensemencées et incubées (b) ensemencement par étalement.

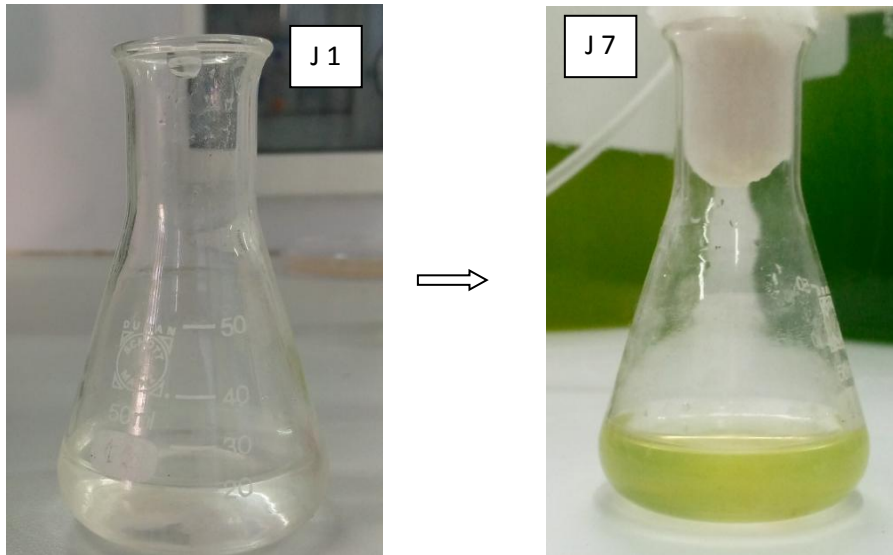
#### II.1.4.3 Purification

Une fois que les colonies commencent à pousser sur le milieu, la purification est faite en les repiquant, par la méthode des stries dans une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu de culture gélosé. Cette opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'une culture pure uni-algale (**Figure II.1-11**).



**Figure II-11 :** Souche de *chlorella* sp pure.

Afin d'activer les souches une petite quantité de biomasse est raclée à partir du milieu solide et ensemencée vers un Erlenmeyer de 50 mL contenant 20 mL de milieu de culture liquide. Les Erlenmeyers contenant la souche sont incubés près d'une source lumineuse continue, à une température de 24°C (**Figure II.1-12**).



**Figure II-12:** Evolution de la souche incubée du 1<sup>er</sup> au 7<sup>ème</sup> jours.

La croissance des souches est contrôlée chaque jour dans l'armoire thermorégulatrice (**Figure II.1-13**) Lorsqu'elles commencent à pousser, le volume de la culture peut être augmenté à 150 mL dans un flacon de 250ml.



**Figure II-13:** Contrôle de la souche dans l'armoire thermorégulatrice.

## II.1.5 Production de biomasse

### Matériels de laboratoire utilisé :

- Un réfrigérateur.
- Un autoclave.
- Une étuve.
- Une pompe aire.
- Une balance de précision.
- Un microscope optique.
- Bec bunsen.
- Erlenmeyers de 250mL.
- Erlenmeyers de 500mL.
- Erlenmeyers de 1000mL.
- Flacons de 5L.
- Flacons de 10L.
- Propipettes.
- Lames de Malassez.

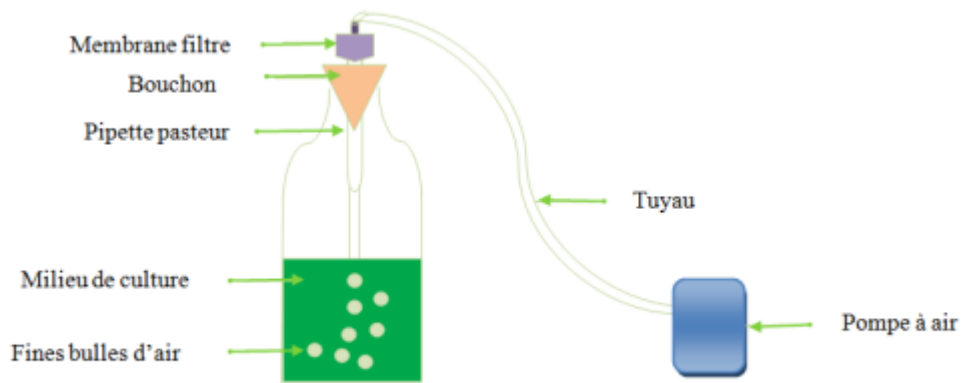
### Consommable et produits de laboratoire :

- Papier aluminium.
- Coton cardé.
- Goupillons.
- Eponge.
- Ethanol 70%.
- Eau de Javel.
- Produit de vaisselle.

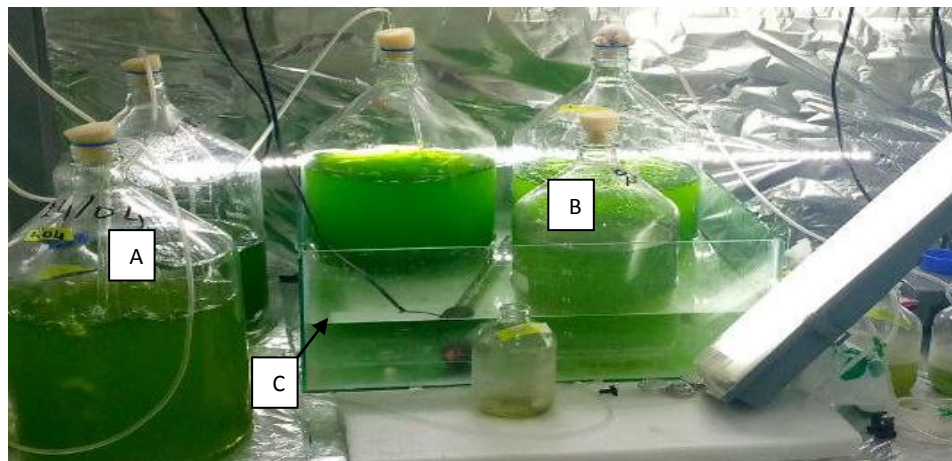
- **Dispositif de culture : Miniphotobioréacteur**

Des flacons et des Erlenmeyers en verre transparent d'un volume de 250 mL jusqu'à 10L sont utilisés comme des miniphotobioréacteurs conçus au laboratoire pour la culture des micro-algues.

Les cultures sont agitées grâce à un bullage d'air stérile (CO<sub>2</sub> atmosphérique) avec un filtre d'air. L'éclairage est assuré par des néons de type LED et la température est constante et réglée à 26°C grâce à un bain Marie (**Figure II.1-14-15**).



**Figure II-14** : Schéma du mini photobioréacteur à bullage d'air



**Figure II-15** : Système de culture utilisé au cours de la production, (A) : Volume de 10L, (B) : Volume 5L (C) : Bain Marie pour augmenter la température.

- **Ajustement de pH et de salinité de milieu de culture :**

Au cours de la préparation de milieu de culture, le pH et la salinité variaient respectivement entre 6 et 12 et 28 et 35 PSU. Pour notre souche, le milieu de culture devra être réglé à un pH de 08 et à une salinité de 30 PSU (**Josephine et al, 2022**).

L'ajustement du pH est réalisé par la préparation de deux solutions NaCl et NaOH de une mole chacune. Quant à l'ajustement de la salinité, il est réalisé par l'ajout d'eau distillée.

- **Mise en culture :**

Avant toute manipulation, la zone des manipulations doit être stérile et tout le travail doit se faire en proximité du bec Bénédict.

La stérilisation du F/2 Guillard s'effectue par voie thermique grâce à un autoclavage. Le milieu est ensuite conservé dans un système frigorifique à une température de 4°C (température inhibant la prolifération de germes pathogènes).

La mise en culture est réalisée en multipliant le volume des cultures par un facteur de 4 à 5 à chacune des étapes en passant d'un volume de 50 ml à 250 ml puis à 250ml puis à 1L et en dernier 20 Les étapes correspondent à la multiplication algale (**Figure II.1-16-17**).

Le début de chaque culture est caractérisé par une étape d'inoculation qui consiste à introduire l'inoculum dans un milieu de culture

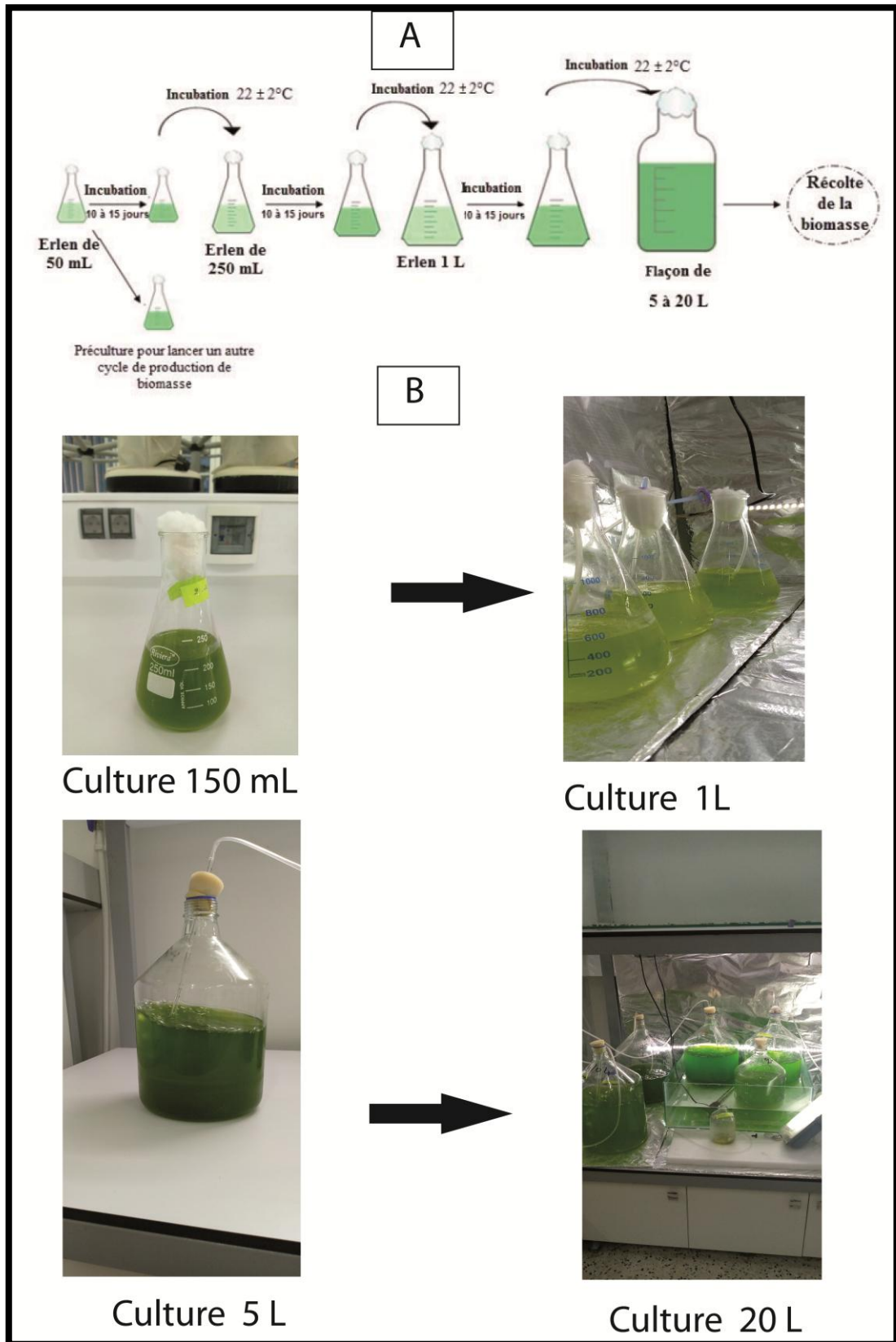
- **Entretien des cultures :**

La flamme est placée à 3-4 cm du col du ballon à ensemençer. Ce ballon est débouché dans la zone aseptique. Il en est de même pour l'inoculum. Il est versé dans le nouveau milieu de culture en restant bien dans la sphère stérile. Il faut prendre garde à ne pas verser le dépôt qui se trouve au fond du ballon d'inoculum. Ce dépôt est formé de cellules mortes qui pourraient freiner la croissance de la culture.

Toutes les cultures sont incubées à 24° à 28°C près d'une source lumineuse.



**Figure II-16:** Différentes étapes de production de *Chlorella* sp



**Figure II-17** : Mise en culture de la souche *Chlorella* sp  
 (A) Protocole général et (B) illustration de protocole.

## II.1.6 Croissance de la souche *Chlorella* sp sous différentes conditions

La culture de *chlorella* sp a été effectuée sous différents modes trophiques (**Figure II.1-18**) à savoir l'autotrophie et la mixotrophie dans des Erlenmeyers de 500 ml dans le milieu Guillard f /2.

Les conditions de culture sont représentées dans le Tableau V en mixotrophie, l'acétate de sodium est rajouté avec des concentrations de 15 et 25 mM (**WO 2012035262 A**), comme une source de carbone et avec un éclairage discontinu, afin de comparer la concentration en biomasse algale.

**Tableau V :** Les modes trophiques dans différentes conditions.

Conditions	Mode autotrophe	Mode mixotrophe
Le milieu de culture	culture Guillard f/2	culture Guillard f/2
La durée	13 jours	13 jours
La lumière	Continue	Discontinue
La température	26°C	26°C
Source de carbone	/	l'acétate de sodium

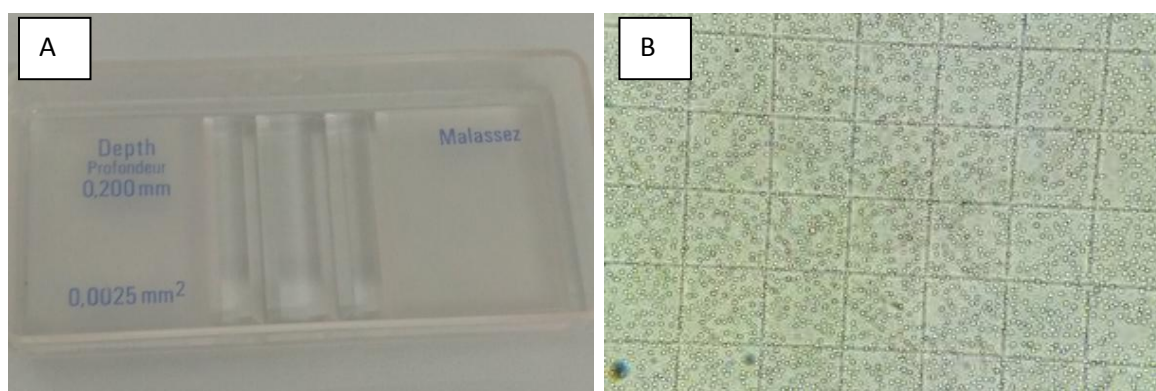


**Figure II-18:** Culture en deux modes de *chlorella* sp.

## II.1.7 La cinétique de croissance des micro-algues

### II.1.7.1 Le comptage des cellules

Pendant la durée de l'expérience, le comptage des micro-algues est réalisé chaque jours au moyen d'un microscope optique, à l'aide d'une lame de comptage spéciale, la cellule de Malassez (**Figure II.1-19**). Un quadrillage gravé sur la cellule permet un comptage aisé (voir annexe I). Une goutte de lugole est ajoutée à la culture afin d'immobiliser les cellules avant le comptage.



**Figure II-19:** (A) : Lame de Malassez ; (B) : quadrillage de la lame de Malassez observé Au microscope optique (G×40).

### I.1.1 La densité optique

Les croissances ont été aussi suivies quotidiennement et une fois par jour par mesure de densité optique à 750 nm au spectrophotomètre (**Figure II.1-20**) (Model.UV-51000 UV- VIS SPECTROPHOTOMETRE) dans des cuvettes en Quartz.



**Figure II-20:** Spectrophotomètre du laboratoire de Chimie (ENSSMAL).

## II.1.8 La Biomasse

La méthode utilisée pour déterminer la productivité des micro-algues a été adaptée de celle décrite par **Zhu et Lee (2012)** qui consiste à filtrer un échantillon de 10 ml de suspension d'algues de chaque culture sur une rampe de filtration à l'aide d'une membrane filtrante (porosité de 0,45  $\mu\text{m}$ ) (**Figure II.1-21**). Les filtres ont d'abord été séchés dans une étuve (BINDER) à 70°C pendant 24 heures puis pesés au moyen d'une balance (KERN).



**Figure II-21:** Filtration algale ; (A) Membrane filtrante, (B) : Rampe de filtration.

Pour calculer la productivité des micro-algues, l'équation décrite par Chiu et al (2011) a été utilisée.

$$\text{Productivité (g/L/j)} = \frac{W_f - W_i}{\Delta t}$$

Où **W<sub>f</sub>** et **W<sub>i</sub>** représentent respectivement la biomasse finale et initiale et  **$\Delta t$**  représente le temps de culture en jours.

## II.2 Affinage des huitres

L'affinage des huitres s'est déroulé pendant quatre semaines dans la ferme conchylicole CULTMARE dans la wilaya de Tipaza.

### II.2.1 Présentation de la ferme d'élevage CULTMARE



**Figure II-22:** Ferme CULTMARE (Google earth; CULTMARE, 2023).

- **Situation géographique**

CULTURE MARINE ou CULTMARE (**Figure II.2-1-2**) est une entreprise algérienne spécialisée dans l'élevage de moules *Mytilus galloprovincialis* et d'huîtres creuses *Crassostrea gigas*. Elle est implantée en bord de mer, à Kouali, située à 4 km à l'Est de Tipaza. La ferme d'élevage, Cultmare dispose d'un terrain d'une superficie de 2000 m<sup>2</sup> et d'une concession maritime de 36 hectares. Dans cette concession, 20 filières conchylicoles de 300 mètres chacune ont été installées en sub-surface.



**Figure II-23:** Situation géographique de la ferme conchylicole « CULTMARE »  
(Source : Google earth ; CULTMARE, 2023).

Les limites géographiques du site sont :

- Latitude : Entre 36° 35' 29.32'' ET 36° 35' 58.01'' Nord;
- Longitude : Entre 2° 30' 40.20'' ET 2° 30' 40.15'' Est.

## II.2.2 Matériel biologique

L'affinage est réalisé sur des huîtres *Crassostrea gigas* âgées de 15 mois qui proviennent de l'entreprise CULTMAR. Initialement, le poids moyen était  $201 \pm 52g$ . L'opération est réalisée pendant une période de 30 jours (du 16 Avril au 16 Mai 2023).

Un total de 20 individus d'huîtres a été réparti à part égale dans 2 bacs de 20 litres (**Figure II.2-3**). Ces derniers sont aérés et leur eau est quotidiennement renouvelée avec une eau de mer de 16 à 18°C. Chaque bac est enrichi quotidiennement en micro-algues (*Chlorella* sp). Dix individus sont considérés comme échantillon témoin destinés pour l'analyse biochimique avant l'affinage.

- Le bac 1 reçoit  $2 \cdot 10^9$  cellules de micro-algues /j/individu,
- Le bac 2 reçoit  $4 \cdot 10^9$  cellules de micro-algues /j/individu,



**Figure II-24:** Bacs d'élevage des huitres pour affinage

### I.1.2 Biométrie

Les descripteurs biométriques (poids total, poids frais de la chair, épaisseur) sont mesurés en début d'expérience sur l'échantillon témoin (B1) puis sont refaits pour les deux échantillons (B2) et (B3) après l'affinage.

Les paramètres biométriques ont permis le calcul d'un indice de remplissage (I) issu de l'accord interprofessionnel (2000), qui s'écrit :

$$I = (m2 / m1) * 100$$

Où, m1 est le poids total de l'huître (g) et m2 celui du poids frais de la chair (g).

L'appréciation de cet indice, permet de classer les huîtres en différentes appellations:

- Appellation « huître fine » :  $6 < I < 10,5$
- Appellation « huître spéciale » :  $10,5 \leq I$

Au niveau de la ferme CULTMARE, nous avons soumis notre produit au personnel pour un test de dégustation pour voir s'il y avait une différence de goût entre les trois lots d'huîtres.

- **Test statistique**

Pour comparer les principaux descripteurs biométriques, le test non paramétrique du Khi2 de Kruskal-Wallis (P=0.05) a été utilisé (*Online Kruskal-Wallis Test Calculator, n.d.*)(Annexe II) Ce test est une alternative non paramétrique à l'ANOVA. Il est utilisé pour comparer au moins trois échantillons et tester l'hypothèse nulle suivant laquelle les différents échantillons à comparer sont issus de la même distribution ou de distributions de même médiane.

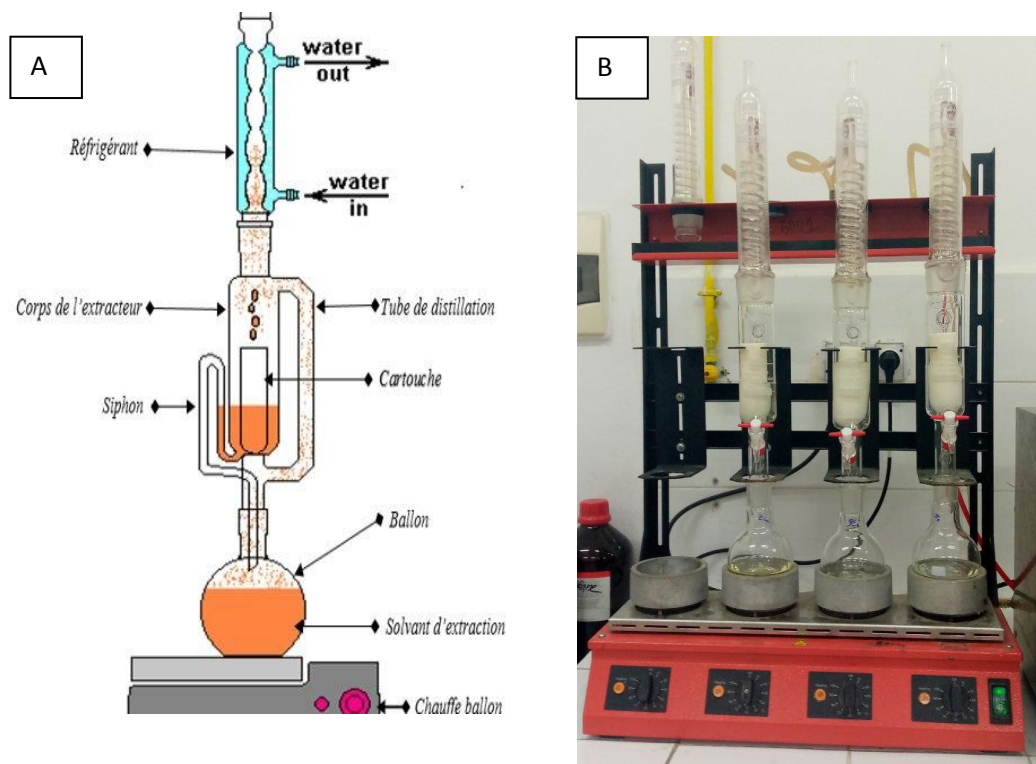
### II.2.2.1 Biochimie

Les analyses biochimiques des huîtres ont été effectuées avant et après l'expérience d'affinage, à partir de la chair lyophilisée des huîtres qui a été finement broyée au moyen de lyophilisateur. Les dosages ont été réalisés au niveau du laboratoire LBCM à l'ENSSMAL.

Le dosage des lipides, protéines et glucides sont respectivement réalisés selon les méthodes d'analyses tirées de la publication d'INRA (1981).

#### II.2.2.1.1 Teneur en lipides

La méthode standard d'extraction Soxhlet (AOAC, 1990) est une méthode de référence pour le dosage des matières grasses. La méthode utilise l'extraction par reflux dans un montage général en verre, dans lequel un échantillon préalablement broyé est placé dans un cylindre de cellulose, lui-même placé dans un solvant- rempli dans le tube. L'appareil utilisé était un extracteur Soxhlet avec cartouche d'extraction (**Figure II.2-4**) (Grine et Aouad, 2020).



**Figure II-25:** Extracteur Soxhlet ; (A) : Schéma d'extracteur soxhlet (El kalamouni, 2010), (B) : Appareil de Soxhlet (LBCM)

- **Mode opératoire**

- Peser 1g d'échantillon dans un cartouche de soxhlet et peser le ballon de soxhlet vide, Avant le montage sur l'extracteur monté lui-même par une colonne réfrigérante.
- Verser dans chaque siphon 200 mL du solvant d'extraction l'hexane.
- Mise en marche de l'appareil avec une température de 100°C,
- Au point d'ébullition, baisser la température à 60°C.
- Extraire pendant 6 heures,
- Passer à rota vapeur rotatif (Buchi, R-300) pendant 20min à une température entre 40 et 60°C (**Figure II.2-5**).
- Afin d'évaporer l'hexane on passe le ballon à l'étuve à 105°C pendant 3 heures,
- Laisser refroidir au dessiccateur jusqu'à la peser.



**Figure II-26** : Rota vapeur (Buchi, R-300) au niveau de laboratoire LBCM.

La teneur en matière grasse totale de l'échantillon est calculée ainsi :

$$\text{Matière grasse}\% = 100 \times (M2 - M0)/M1.$$

*M0* : Masse en gramme du ballon vide, *M1* : Masse en gramme de la prise d'essai, *M2* : Masse en gramme de ballon après extraction et séchage.

### II.2.2.1.2 Teneur en protéines

La méthode de Kjeldahl (Crooke et Simpson, 1971) a été développée par Johan Kjeldahl, chimiste danois, en 1883. Son principe consiste à doser la teneur en azote et d'utiliser un coefficient de conversion pour estimer la teneur en protéines (LE ROUX, 2012).

Le dosage des protéines par la méthode de Kjeldahl se décompose en trois étapes : la matière organique est minéralisée avec de l'acide sulfurique en présence de catalyseur au cuivre ( $K_2SO_4 + CuSO_4 + Se$ ), l'azote total est converti en  $(NH_4)_2SO_4$ , puis libéré par l'ajout de NaOH en excès et la distillation à la vapeur d'ammoniac avec de l'acide borique extrait le  $NH_3$  des échantillons minéralisés et enfin le  $NH_3$  libéré est déterminé par titrage avec de l'acide sulfurique 0,1 N (Grine et Aouad, 2020).

#### II.2.2.1.2.1 Mode opératoire

- Peser dans un tube à minéralisation une prise d'essai de 1 à 2g d'échantillon,
- ajouter 2 g de catalyseur (250g de  $K_2SO_4$  ; 250g de  $CuSO_4$  et 5g de Se), avec 20mL d'acide sulfurique pur ( $d=1.84$ ),
- Porter le mélange sur le support d'attaque à  $450^\circ C$  jusqu'au changement de couleur vers le vert qui indique la fin de la réaction. L'étape dure environ 2h 30mins.
- Laisser refroidir, puis ajouter peu à peu, avec précaution 200 mL d'eau distillée en agitant et en refroidissant sous un courant d'eau. Rincer l'agitateur. Laisser refroidir complètement au trait de jauge.
- Transférer 10 à 50 mL le contenu du matras dans l'unité de distillation (Buchi) (**Figure II.2-6**).
- Dans un bécher destiné à recueillir le distillat, introduire 20 mL de l'indicateur composé de :

Pour 1l de solution : 20g d'acide borique

- 200 mL d'éthanol absolu
- 10 mL d'indicateur, contenant :
  - 1 /4 de rouge de méthyle a 0.2% dans l'alcool a  $95^\circ C$ .
  - 3/4 de vert de bromocrésol dans l'alcool a  $95^\circ C$ .

Mise en marche de l'appareil afin d'obtenir un volume de distillat de 100mL.

Tirer la solution par l'acide sulfurique (N/20) jusqu'à ce qu'elle vire à la couleur initiale de l'indicateur.

1 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N → 0.014 g d'N.

1 mL d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> N/2 → 0.0007 g d'N.



**Figure II-27 :** Unité de distillation (Buchi) au niveau de laboratoire Biochimie.

La teneur en azote est exprimée en masse du produit :

$$N = X * 0.007 \left( \frac{100}{P} \right) * \left( \frac{V}{V0} \right).$$

Teneur en protéine :

$$P\% = N * 6.25.$$

X : solution d'acide sulfurique pour la détermination (mL), V0 : volume de prise d'essai (mL),

V : Volume de burette (mL) P: poids des échantillons(g).

### II.2.2.1.3 Dosage des glucides (glycogène)

En 1951, Dubois a démontré après expérimentation, que le phénol en présence d'acide sulfurique concentré peut être utilisé pour déterminer par colorimétrie des microquantités d'oses et leurs dérivés, d'osides et de polyholosides présents dans l'eau de mer. Cette méthode est simple, rapide et donne des résultats reproductibles. Les réactifs sont bon marché et stables. De plus la coloration brune-orangée est relativement stable.

- **Mode opératoire**

- Peser 10 mg de la chair broyée et lyophilisée dans des tubes en verre (02 essais par échantillon).
- Ajouter 03 mL de TCA 15% (en pesant 15 g d'Acide trichloracétique dans 100 mL d'eau distillée). Dans les tubes contenant la chair et on les laisse extraire 1h à 4 ° après l'homogénéisation.
- Placer les tubes dans l'agitateur mécanique et les centrifuger à 2000 tr/min durant 10 min.
- Verser le contenu de chaque tube dans un flacon de 50mL.
- Pipeter 0,5 mL de surnageant et ajouter 04mL d'éthanol absolu, homogénéiser et centrifuger 10min à 2000tr/min.
- Ajouter 0,5 mL de H<sub>2</sub>O après élimination de surnageant et homogénéiser par agitateur mécanique.

- **Préparation de la gamme étalonnage**

On prépare une gamme de différentes concentration en glucose de 50µg /mL, 100µg/mL, 150µg /mL, 200 µg /mL ,400 µg/mL ,500 µg/mL. Réappliquer toutes les étapes précédentes. (Voir annexe).

- **Dosage**

On ajoute 01 mL de phénol à 05% dans chaque tube et attendre 40 min. Puis 05 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et attendre 10 min.

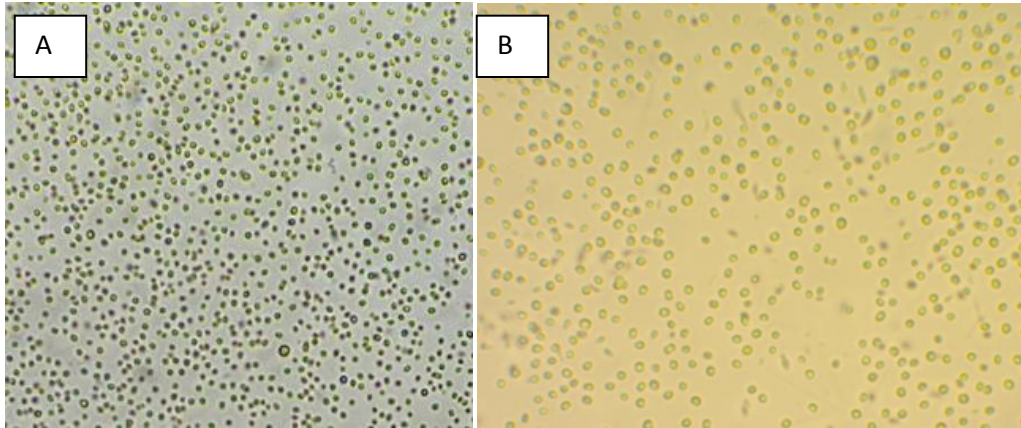
Faire une lecture par le spectromètre 490nm après une homogénéisation.

### **III. CHAPITR 3 : RESULTATS ET DESCUSSION**

### III.1 LA croissance des micro-algues

#### III.1.1 Résultats de la purification

L'observation microscopique au grossissement x40 de l'échantillon d'algues, permet de confirmer la pureté de la souche algale (**Figure III.1**).



**Figure III-1:** *Chlorella* sp; (A) : observation au microscope optique (G40), (B) : observation au microscope avec caméra (G40).

#### La production algale

Une production de 10 L est obtenue chaque semaine destinée pour l'affinage des huitres (**Figure III.2**)



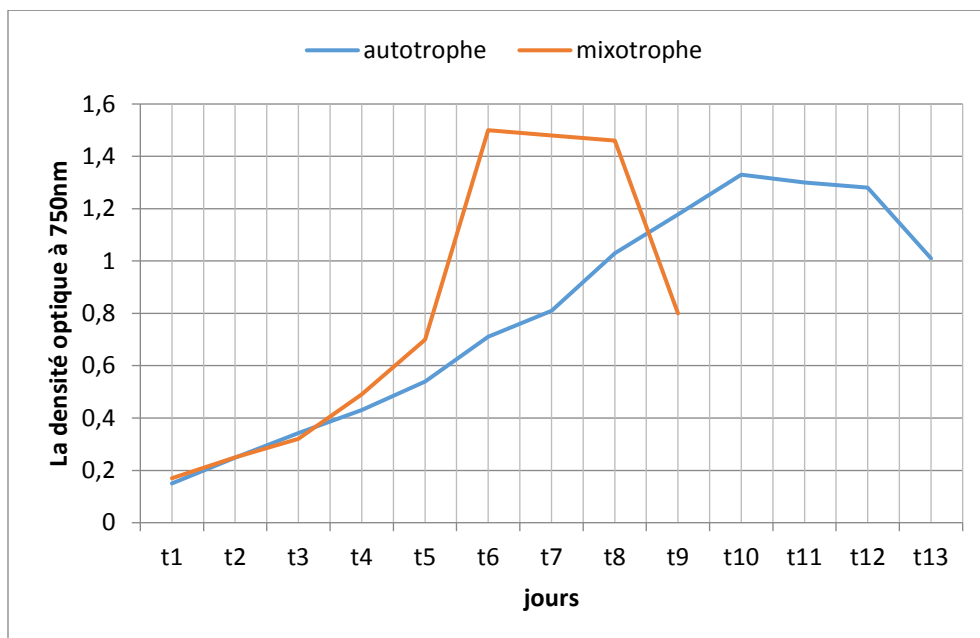
**Figure III-2 :** Production hebdomadaire d'algues

### III.1.2 Densité optique

La courbe suivante (**Figure III.3**) représente l'évolution de la densité optique à 750nm de *Chlorella* sp en modes mixotrophe et autotrophe. De  $J_0$  à  $J_{13}$ , on observe l'évolution suivante :

- De  $J_0$  à  $J_4$  la densité optique est de 0.43 en autotrophie et 0.49 en mixotrophie
- A  $J_6$ , la densité optique en mixotrophie atteint une valeur maximale de 1.5.
- De  $J_7$  à  $J_9$ , la densité optique est entre 1.48 et 0.8 en mixotrophie, et entre 0.81 et 1.17 en autotrophie
- La valeur maximale (1.33) est atteinte à  $J_{10}$  en autotrophie.

Donc on peut constater une forte croissance algale en mixotrophie par rapport à l'autotrophie.



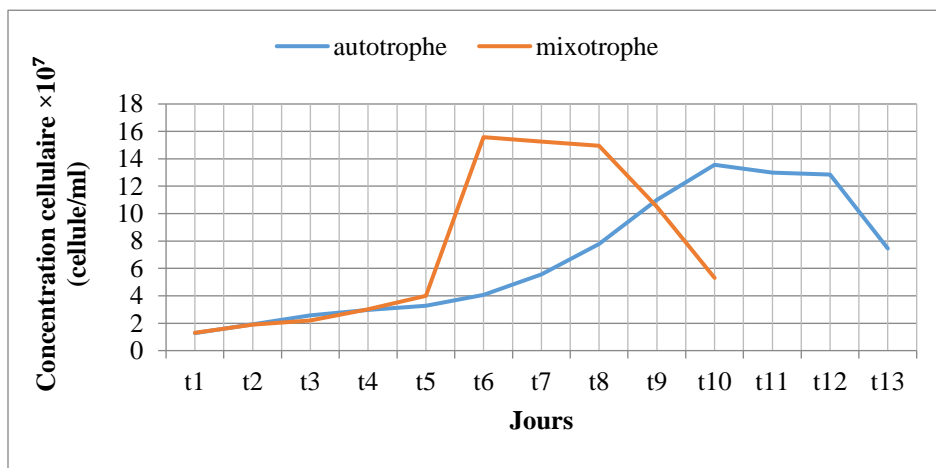
**Figure III-3 :** Evolution de la densité optique de *Chlorella* sp  
En modes mixotrophe et autotrophe

### III.1.3 Comptage cellulaires

La courbe de croissance (**Figure III.4**) en mode mixotrophe commence par une phase de latence qui dure 2 jours. Durant cette période le nombre de cellules algales est constant et est en moyenne de  $1.5 \times 10^7$  cellules/mL. Par la suite, la croissance est accélérée sur une courte phase entre le 2ème jour et le 4ème jour  $4 \times 10^7$  cellules/mL.

L'optimum de croissance ( $15.58 \cdot 10^7$  cellules/mL) est atteint au bout du 6ème jour. Après une période de 2 jours qui correspond à la phase stationnaire  $15 \times 10^7$  cellules/mL, commence la phase de déclin à partir du 8ème jour. Pendant cette phase, la croissance diminue de  $14.96$  à  $5.3 \times 10^7$  cellules/mL.

Cependant, pour la courbe de croissance en autotrophie, le passage d'accélération est assez long qui dure 5 jours avec un moyen de  $2 \times 10^7$  cellules/mL. Ensuite, une phase de croissance se produit entre le 5ème et le 9ème jour, atteignant une densité de  $7 \times 10^7$  cellules/mL. La valeur maximale arrive jusqu'au le 10ème jour d'incubation (sans l'ajout de source de carbone supplémentaire) avec un nombre de cellules de  $13.56 \times 10^7$  cellules/mL. La phase de déclin commence à partir du 8ème jour. Au cours de cette phase, la densité de croissance diminue de  $13$  à  $7,46 \times 10^7$  cellules/mL.



**Figure III-4** : Croissance de *Chlorella* sp en modes mixotrophe et autotrophe

### III.1.4 Productivité en biomasse

Le tableau ci-dessous montre les paramètres de croissance chez *Chlorella* sp et la productivité volumique de la biomasse en fonction des conditions (mixotrophe, autotrophe). Nous remarquons la supériorité de la croissance en mixotrophie.

**Tableau VI :** Résultats de la productivité en biomasse de *Chlorella* sp en modes mixotrophe et autotrophe ( $W_i$  : la biomasse initiale et  $W_f$  : la biomasse finale).

	Autotrophe	Mixotrophe
$W_i$ (g/L)	1.09	1.11
$W_f$ (g/L)	3.33	5.76
Productivité volumique (g/L/J)	0.224	0.776

### III.1.5 Discussion

Les micro-algues ont la capacité de fonctionner selon un métabolisme autotrophe ou hétérotrophe. En tant qu'autotrophes, elles utilisent le carbone inorganique, principalement le  $CO_2$ , comme source de carbone, tandis que la lumière est leur principale source d'énergie. En revanche, les micro-algues à métabolisme hétérotrophe dépendent du carbone organique pour leur source de carbone et d'énergie (**Stevenson et al, 1996**).

*Chlorella* sp a commencé à se développer grâce à la reproduction végétative. En effet, les cellules sont jeunes et présentent un potentiel élevé de division (**Coronado-Reyes et al, 2020**).

Lors du suivi de la croissance par densité optique, nous avons remarqué que les cultures en mode mixotrophe ont démarré avec une densité optique faible, mais ont connu une augmentation significative (passant de 0,1 à 1,5). De plus, ces cultures ont atteint leur densité optique maximale plus rapidement que les cultures en mode autotrophe. Ces résultats concordent avec les recherches de **Michielin (2019)**.

Le suivi de la croissance a été effectué en mesurant la densité optique, ce qui permet de quantifier la dispersion de la lumière par les particules présentes dans la culture. Cependant, il est important de noter que la taille des particules peut influencer les résultats obtenus. Par conséquent, nous avons également suivi la croissance en effectuant des comptages cellulaires. Nous avons observé une augmentation de la concentration cellulaire dans les deux cas après le deuxième jour de culture. L'ajout d'acétate de sodium a favorisé une densité cellulaire plus élevée, ce qui a entraîné une production accrue de cellules. En effet, les conditions dans lesquelles une source de carbone a été ajoutée ont montré une meilleure densité cellulaire par rapport à la condition sans ajout de carbone.

Ces résultats sont cohérents avec les observations faites par certains auteurs, qui ont également constaté que l'apport en carbone favorise la division cellulaire (**Coronado-Reyes et al. 2020**), (**Rahaman et al. 2011**). (**Michielin, 2019**).

En ce qui concerne la productivité, on constate que l'ajout de l'acétate de sodium augmente la productivité en biomasse dans le cadre de la mixotrophie. Les recherches menées dans la demande **WO 2012/035262** sur les effets du milieu de culture sur la croissance des micro-algues marines sont également en accord avec nos résultats.

D'après nos résultats on peut remarquer que la croissance est plus importante et rapide en mixotrophie qu'en autotrophie.

### III.2 AFFINAGE DES HUITRES

Selon le tableau VII, nous remarquons une différence significative entre le poids total des huitres témoins et celui des huitres nourries par *Chlorella* sp.

Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre les différents lots d'huitres (B1, B2, B3) concernant le poids frais de la chair et l'épaisseur.

L'indice de remplissage qui varie entre 6.8 et 6.85 permet de classer les huitres des trois lots en huitres spéciales et fines.

Lors de l'expérience qui a duré 30 jours, aucune mortalité n'a été constatée chez les huitres, la survie étant de 100%.

Les employés de la ferme conchylicole qui ont participé au test de dégustation, ont affirmé à l'unanimité, qu'il y avait une différence notable en matière de goût entre les huitres non affinées et celle affinées, ces dernières présentant un très bon goût bien particulier.

**Tableau VII :** Analyse de variance des paramètres biométriques après l'affinage des huitres. (N.S) non significative, (S) significative

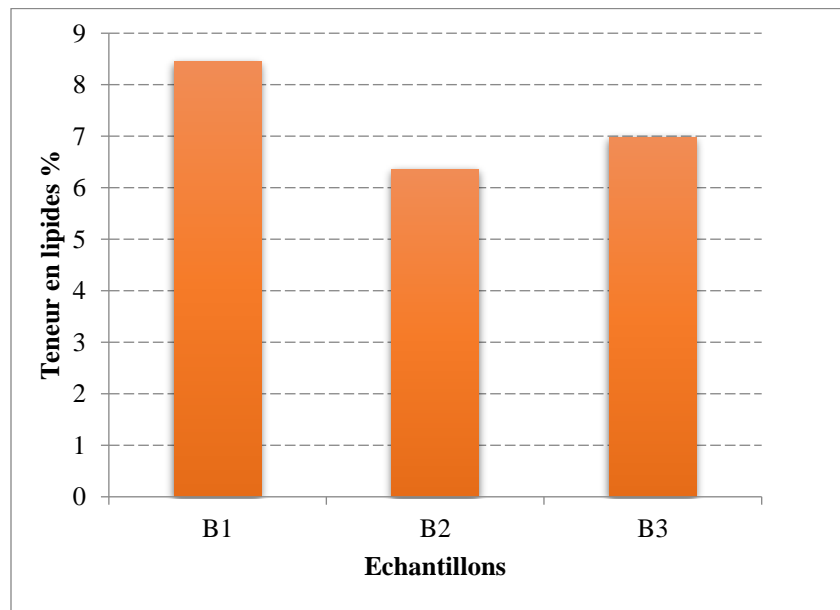
Paramètre	Moyenne	Proba. (5%)
Pois Total	B (1) :155.736 B(2) :203.93 B(3) :211.469	0.00059 (S)
Epaisseur	B(1) :3.573 B(2) :3.57 B(3) 3.61	0.79 (N.S)
Poids frais	B(1) :12.483 B(2) :15.544 B(3) 15.234	0.21 (N.S)
Indice de remplissage	B(1) :6.16 B(2) :6.83 B(3) :6.85	0.62 (N.S)

### III.2.1 Analyses biochimiques

Les évolutions des paramètres biochimiques qui sont, en termes de qualité, les plus pertinentes à suivre sont celles des lipides, du glycogène (énergie de réserve) et des protéines.

#### III.2.1.1 Dosage des lipides

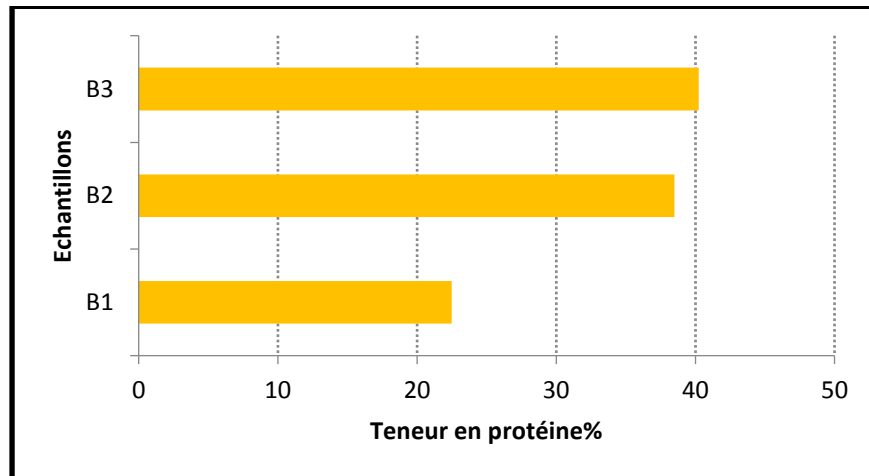
La figure ci-dessous (**Figure.5**) représente la teneur en lipides de la chair des huitres des trois échantillons. Dans l'échantillon 1 (en début d'expérience), la valeur des lipides atteint 8,46%. D'autre part, la teneur en lipides dans le premier et le deuxième échantillon atteint 6,36% et 6,98% respectivement. Nous remarquons une légère diminution du taux de lipides après la période d'affinage.



**Figure III-5 :** Teneurs en lipides des trois échantillons d'huitres

### III.2.1.2 Dosage des protéines

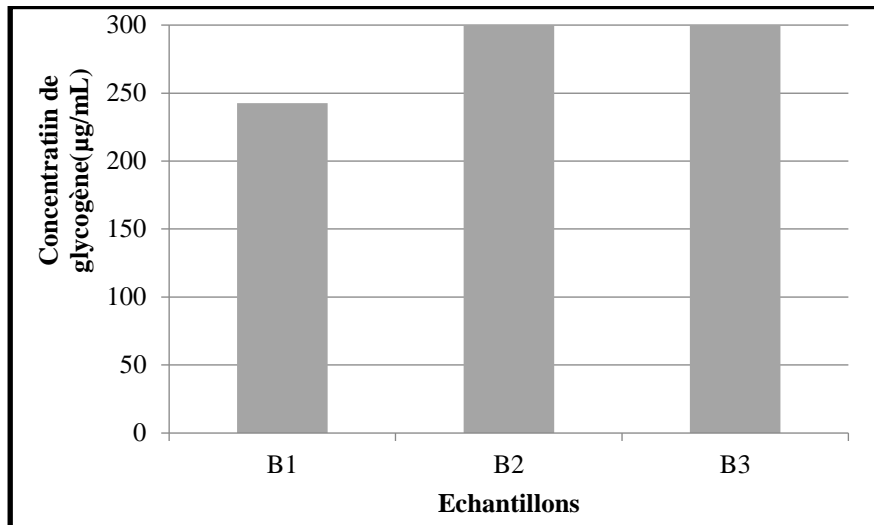
L'histogramme suivant (**Figure III.6**) montre la teneur en protéines dans les trois échantillons. On observe que les valeurs obtenues ont augmenté significativement dans l'échantillon 01 (38.5 %) et l'échantillon 02 (40.25%) par rapport au début de l'expérience 22,5%.



**Figure III-6 :** Teneur en protéine dans les trois échantillons d'huitres

### III.2.1.3 Dosage du glycogène

La figure ci-dessous (**Figure III.7**) représente la concentration de glycogène dans la chair des huîtres en fonction de deux concentrations différentes de micro-algues utilisées, passant de 242,48  $\mu\text{g/l}$  avant l'affinage à 307,95  $\mu\text{g/l}$  pour la première concentration et à 354,46  $\mu\text{g/l}$  pour la deuxième concentration après l'affinage.



**Figure III-7** : Taux de glycogène dans les trois échantillons d'huîtres

### III.2.2 Discussion

Les objectifs dans ce travail sont: l'étude de l'influence du processus d'affinage sur la qualité et la composition biochimique en protéines, glycogènes et lipides dans la chair des huitres.

La ration alimentaire journalière adoptée dans cette étude, a été fixée conformément aux travaux antérieurs réalisés sur l'affinage intensif de l'huître creuse *Crassostrea gigas* et semble être en adéquation avec les besoins de l'animal comme observée par **Haure (2003)**.

Dans un premier temps pour évaluer l'évolution quantitative de la croissance des animaux, nous avons mesuré le poids total, le poids frais de la chair et l'épaisseur. En ce qui concerne l'information qualitative, nous avons utilisé l'indice de remplissage comme première évaluation. Selon les résultats obtenus par le test statistique, la seule différence significative était marquée en poids total avant et après l'affinage. D'autre part la recherche de **Baud, Jean-pierre et al (1995)**, **Soletchnik (1997)** et **Haure (2003)** montre le contraire de nos résultats car ils ont trouvés qu'il y avait une différence significative dans tous les paramètres biométriques entre les valeurs du début et de la fin de l'affinage.

En ce qui concerne l'évolution des paramètres biochimiques qui sont, en termes de qualité les plus pertinentes à suivre sont celles des lipides, glycogène (énergie de réserve), et les lipides (**Deguil. 1998**). On peut remarquer que :

- Les teneurs en glycogène ont présenté une nette augmentation durant l'affinage. Nous enregistrons les meilleurs pourcentages en glycogène à la fin de l'affinage par la micro-algue *Chlorella* sp par rapport aux résultats effectués par **Deguil, (1998)** et **Van Houcke et al (2017)** qui ont affinés les huitres par la diatomée *Skeletonema costatum*.
- D'autre part, les résultats du dosage des protéines rejoignent ceux obtenus par **Baudet al (1995)** qui n'a constaté aucune différence significative de ce composant biochimique entre les deux lots étudiés en fin d'affinage.

- En contrepartie, les teneurs en lipides dans la chair des huîtres n'ont pas évolué durant la période d'affinage mais les valeurs ont diminué dans les deux lots. **Deguil (1998)** a aussi signalé qu'une diminution remarquable de la teneur lipidique à la fin de l'affinage. Par contre, les résultats de **Haure (2003)** ne rejoignent pas les nôtres car des différences significatives sont apparues, entre les valeurs du début et de la fin de l'affinage, mais ça dépend des micro-algues utilisées.

Nos résultats indiquent que l'environnement des huîtres enrichies en *Chlorella* sp peut stimuler leur métabolisme, ce qui favorise une croissance plus rapide. Cette stimulation conduit à une augmentation de la teneur en protéines et en glucides dans la chair des huîtres, car la Chlorelle fournit une source supplémentaire de ces nutriments.

Parallèlement, en raison de sa faible teneur en lipides (14%–22%) *chlorella* sp entraîne une diminution significative du taux de lipides après l'affinage (**Josephine et al. 2022**).

## Conclusion et perspectives

Notre travail avait pour objectif l'amélioration de la chair des huîtres plus particulièrement sa valeur nutritive. Le processus consistait à enrichir les huîtres en certains nutriments, notamment en glycogène, protéines et lipides, en utilisant la micro-algue *Chlorella* sp.

Cette étude a débuté par une culture de *chlorella* sp dans des conditions adéquates et une étude sur la cinétique de la croissance de la micro-algue en différents modes (mixotrophie et autotrophie) a été réalisée.

Nos résultats relatifs au comptage cellulaire et à la densité optique montrent que la croissance de l'algue est plus rapide en mixotrophie qu'en autotrophie. De même, la productivité en biomasse est plus importante en mode mixotrophe (0.776 g/L/j) qu'en autotrophie (0.224 g/L/j).

De ce qui précède, nous pouvons considérer les conditions (ajout de source de carbone et apport de lumière en discontinu) de la mixotrophie, comme étant les conditions favorables pour la production de notre souche *chlorella* sp.

En ce qui concerne l'affinage des huîtres par *chlorella* sp, nous avons réalisé des analyses biochimiques sur la chair des huîtres avant et après l'affinage. D'après les résultats obtenus, la micro-algue *Chlorella* sp influe significativement sur la teneur de l'huître en protéines et en glycogène contrairement aux lipides dont la valeur a considérablement diminué.

Par ailleurs, on peut conclure que le procédé d'affinage des huîtres peut être réalisé sur une période de quatre semaines.

En perspectives, il serait intéressant d'effectuer d'autres études qui permettront de compléter ce travail à savoir :

- Utiliser une autre micro-algue dans le processus d'affinage,
- Diminuer la durée de l'affinage avec une concentration plus élevée de micro-algues pour obtenir un enrichissement rapide,

- Enrichir le milieu d'affinage par un mélange de différentes espèces des micro-algues présentant des critères essentiels. Les souches sélectionnées devraient posséder, autant que possible, les caractéristiques suivantes :
  - Productivité élevée de biomasse ;
  - Productivité élevée du produit valorisé ;
  - Capacité élevée de fixation du  $\text{CO}_2$ , en autotrophie ;
  - Capacité élevée d'utilisation de la lumière, en autotrophie ;
  - Capacité d'utilisation d'une source de glucose peu dispendieuse et largement disponible, en hétérotrophie ;
  - Capacité de dominance sur les espèces indigènes en système ouvert ;
  - Tolérance à une large gamme de température, suivant les variations diurnes et saisonnières.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acosta Luna , A. (2010).** Les phénoloxydases chez l’huître creuse *Crassostrea gigas* : biomarqueurs potentiels de stress environnemental. Thèse de doctorat. Sciences agricoles. La France. Université de La Rochelle. P.P 50-56
- Ahmad, M. , Shariff, M.et al (2018).** Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. Vol.12,n° 1,P.8
- Baud, J. Mornet, C. (1998).** Influence de la température sur l’affinage contrôlé de l’huître creuse *Crassostrea gigas*.vol.169,n°3.
- Baud, Jean-pierre, Emmanuelle Brisset et Mireille Cardinal. (1995).** Affinage contrôlé en bassin de l’huître creuse *Crassostrea gigas*. Rapport d’activité. Document non publié. Bouin :Ifremer.
- Chevanton, M.J. (2013).** Interactions microalgues-bactéries en système expérimental bispécifique : effets sur la croissance de *Dunaliella* sp. Thèse de Doctorat option phycologie, La France. Université de Nantes. P.182
- Coronado-Reyes, J. A., Salazar-Torres, J. et al (2022).** *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review. *Food Science and Technology*, vol.42.n° 37320,P. 2
- Deguil, C. (1998).** Evolution des conditions d'affinage de l'huître creuse *Crassostrea gigas* en claires ostréicoles (Marennes-Oléron).vol.13, n°2, P. 4
- Crassostrea gigas*: FAO (2009).**
- FAO.(2020).** La situation Mondiale des pêches et de l’aquaculture.
- Gheysen, L., Bernaerts, T.et al . (2018).** Impact of processing on n-3 LC-PUFA in model systems enriched with microalgae. *Food Chemistry*, vol 268, n°441–450.
- Görs, M., Schumann, R.et al (2010).** Analyse de la qualité des produits commerciaux de *Chlorella* utilisés comme complément alimentaire dans la nutrition humaine. *J Appl Phycol* vol.22, n°265-276.

- Habib, S. M. T. B. A. (2015).** Etude et optimisation de bioaccumulation de  $Mg^{2+}$  dans les microalgues «*Chlorella vulgaris*». Thèse de doctorat, option génie des procédés, France, Université Paris – Saclay, P.216
- Haure, J. (2003).** L'amélioration de la qualité des huîtres à échelle professionnelle: intégration de l'eau salée souterraine traitée comme milieu d'élevage. .Rapport d'activité. Document non publié. France : Ifremer
- Josephine, A., Kumar, T. et al (2022).** Evaluating the effect of various environmental factors on the growth of the marine microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Frontiers in Marine Science*, vol.9.n°22
- Kaparapu, J. (2018).** Application\_of\_Microalgae\_in\_Aquaculture,vol.48,n°2
- Lafont M.,(2017)** Mécanismes et spécificité du priming immunitaire antiviral chez un Lophotrochozoaire, l'huître creuse *Crassostrea gigas* . Thèse de Doctorat,Imminologie,Laa France. UNIVERSITE DE PERPIGNAN P.205.
- Lu, J., Sheahan, C. et al(2011).** Metabolic engineering of algae for fourth generation biofuels production. *Energy and Environmental Science*, vol.4,n°7,P.159
- Lubet, P., Mathieu, M. (1999).** Applications à la conchyliculture des récentes acquisitions sur la biologie des mollusques bivalves. *L'Année Biologique*, vol.38, n°1, P.P 27-50.
- Marteil, L. (1976).** La conchyliculture française. 2ème partie. Biologie de l'huître et de la moule. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, Vol.40,n°2), P.P 149-346.
- Michielin, M. (2019).** Mixotrophie de microalgues vertes en milieu fermé : synergie entre assimilation du carbone organique et photosynthèse. Mémoire de Master Master . Biochimie et biologie moléculaire et cellulaire. Liège,. Faculté Des Sciences.P.56
- Muhammad, R., Mujtaba, G.et al (2018).** Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond,vol.12,n°1
- Sihem Tebbani ,Rayen Filali, et al (2014).** Dominique Pareau, Biofixation de  $CO_2$  par les microalgues Modélisation, estimation et commande .Paris : ISTE.

- Soletchnik, P. (1997).** Optimisation de l'affinage de l'huître creuse *Crassostrea gigas* dans les claires ostréicoles du Bassin de Marennes-Oléron : capacité trophique de l'écosystème claires . Effet d'une complémentation alimentaire en algues fourrage sur l'affinage. Ressource trophique et potentiel de croissance.Rapport d'activité.Document non publié.France : 1997 - Ifremer
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, et al (2006).** Applications commerciales des microalgues. J Biosci Bioeng. Vol.101,n°2
- Tarento, T. D., McClure, D. (2018).** Microalgae as a source of vitamin K1. Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts,vol. 36, n°5
- Van Houcke, J., Medina, I.(2017).** The effect of algae diets (*Skeletonema costatum* and *Rhodomonas baltica*) on the biochemical composition and sensory characteristics of Pacific cupped oysters (*Crassostrea gigas*) during land-based refinement. Food research international,vol.100, n°1
- Watanabe, F., Okumura, E., et al (2020).** Potential of Chlorella as a Dietary Supplement to Promote Human Health. Nutrients, vol.12, n°(9)
- Yaich Achour, H.(2018).** Optimisation des conditions de culture de la microalgue *Dunaliella* autochtone isolée et sa caractérisation nutritionnelle et biologique .Thèse de Doctorat Science de la nature. Blida , Université Blida1-Saad Dahlab, P.P.P 32\_150\_202

## **ANNEXE I : Dénombrement cellulaire**

La concentration en nombre de cellules présente dans la suspension micro-algale est déterminée au microscope optique (objectif 40) par comptage sur hématimètre de type Malassez.

La cellule de Malassez est une lame spéciale en verre développée pour le comptage de diverses cellules animales et végétales. Elle est munie de deux chambres de comptage sur la surface supérieure sur lesquelles est placée une lamelle de verre spéciale (plaque couvre-objet) délimitant une profondeur de 0.2 mm. Chaque chambre de comptage est gravée horizontalement et verticalement. Cette gravure précise trace un quadrillage dont on connaît les dimensions. Chaque chambre de comptage est donc un quadrillage composé de 25 grands rectangles dont les dimensions sont connues (0.25 de longueur et 0.25 mm de largeur), chacun est subdivisé en 20 petits carrés de 0.05 mm de côté.

### **Remplissage de la cellule :**

1. Prélever un échantillon de culture.
2. Homogénéiser l'échantillon.
3. Fixer avec du lugol (2 gouttes dans 1ml) ou de l'eau de javel diluée
4. Humidifier les parties extérieures à la lamelle.
5. Déposer la lamelle sur la cellule de Malassez et faire adhérer la lamelle à la lame en faisant glisser plusieurs fois la lamelle sur la lame.
6. Déposer l'échantillon sur le bord de la lame à l'aide d'une pipette pasteur, le liquide remplit alors la cellule par capillarité.
7. Mettre la lame au microscope.

### **Dénombrement :**

1. Faire une première mise au point à l'objectif x40.
2. Passez au grossissement x100 et faire la mise au point. Le quadrillage doit être bien visible.
3. Compter le nombre de cellules pour 5 cases.

## ANNEXE II : Formule de test Khi-2 et interprétation.

$$\chi^2 = \sum_{k=1}^n \frac{(O_k - E_k)^2}{E_k}$$

The diagram shows the formula for the Chi-squared test. Above the formula, 'Observed frequency' is written above  $O_k$  and 'Expected frequency' is written above  $E_k$ . Lines connect these labels to their respective variables in the formula.

**Soit :**  $x^2 = (a-a')^2 / a + (b-b')^2 / b$ .

La valeur obtenue est ensuite comparée avec un seuil lu dans la table du khi-2 pour un degré de liberté et pour un risque d'erreur fixé.

**Degré de liberté** pour interpréter la valeur de khi-2 obtenue, on doit connaître le degré de liberté (d.d.l) du modèle.

**Risque d'erreur** En général on accepte un risque d'erreur de 0.5%, si l'on désire un test très stringent on peut aussi choisir un risque de 0.1%.

Si la valeur de khi-2 est supérieure à celle fournie dans la table, on rejette  $H_0$  et on dira qu'il n'y a pas de lien entre les variables.

[https://datatab.fr/assets/tutorial/chi/Chi-Squared\\_value.png](https://datatab.fr/assets/tutorial/chi/Chi-Squared_value.png).

## **Résumé :**

La Pratique intensive de l'affinage vise à améliorer la qualité nutritive de l'huitre creuse *Crassostrea gigas* avant sa commercialisation. Dans ce travail, la micro-algue *Chlorella* sp est à la base d'un procédé rapide et intensif pour l'engraissement de l'huitre *Crassostrea gigas*.

Ce travail a pour objectif d'améliorer la chair des huîtres, plus particulièrement leur valeur nutritive notamment en protéine, lipides et en glycogène à travers l'affinage et accentuer leur typicité, par *Chlorella* sp, afin de proposer au consommateur un produit de qualité.

Cette étude porte sur une mise en culture de *chlorella* sp dans les conditions adéquates et sur une étude sur la cinétique de la croissance de la micro-algue en différents modes (mixotrophie et autotrophie). Les huîtres sont mises en stabulation dans de l'eau de mer dans laquelle *chlorella* sp est ajoutée à différentes concentrations.

La croissance de *Chlorella* sp est plus importante et rapide en mixotrophie qu'en autotrophie. Aussi, l'environnement des huîtres enrichies en *Chlorella* sp peut stimuler leur métabolisme. Cette stimulation conduit à une augmentation de leur teneur en protéines et glucides et une diminution du taux de lipides dans la chair des huîtres après l'affinage.

**Mot clés :** Affinage, *Crassostrea gigas*, qualité nutritive, *Chlorella* sp, mixotrophie, autotrophie.

## ملخص:

تهدف ممارسة العلاج المكثف إلى تحسين الجودة الغذائية لمحار كراسوستريا جيجاس قبل التسويق. في هذا العمل، تعد الطحالب الدقيقة *Chlorella sp* أساس عملية سريعة ومكثفة لتسمين المحار *Crassostrea gigas*.

يهدف هذا العمل إلى تحسين لحم المحار، وخاصة قيمته الغذائية على وجه الخصوص في البروتين والدهون والجليكوجين من خلال نضجه وإبراز نمودجه، بواسطة *Chlorella sp*، من أجل تقديم منتج عالي الجودة للمستهلك.

تركز هذه الدراسة على ثقافة الكلوريللا *sp* في ظل الظروف المناسبة ودراسة حول حركية نمو الطحالب الدقيقة في أنماط مختلفة (mixotrophia و autotrophy). يوجد المحار في مياه البحر حيث تضاف الكلوريللا *sp* بتركيزات مختلفة.

نمو *Chlorella sp* أكبر وأسرع في mixotrophia منه في autotrophy. أيضاً، يمكن لبيئة المحار المخصب بالكلوريللا *sp* أن تحفز عملية التمثيل الغذائي. يؤدي هذا التحفيز إلى زيادة محتوى البروتين والكربوهيدرات وانخفاض مستوى الدهون في لحم المحار بعد النضج.

**الكلمات الرئيسية:** النضج، *Crassostrea gigas*، الجودة الغذائية، *Chlorella sp*، mixotrophie، autotrophy

**Abstract :**

The Intensive Curing Practice aims to improve the nutritional quality of the *Crassostrea gigas* oyster prior to marketing. In this work, the micro-algae *Chlorella sp* is the basis of a fast and intensive process for the fattening of the oyster *Crassostrea gigas*.

This work aims to improve the flesh of oysters, especially their nutritional value in particular in protein, lipids and glycogen through ripening and accentuate their typicity, by *Chlorella sp*, in order to offer the consumer a quality product.

This study focuses on a culture of *chlorella sp* under the right conditions and a study on the growth kinetics of the microalgae in different modes (mixotrophie and autotrophie). Oysters are housed in seawater in which *chlorella sp* is added at different concentrations.

The growth of *Chlorella sp* is greater and faster in mixotrophie than in autotrophie. Also, the environment of oysters enriched with *Chlorella sp* can stimulate their metabolism. This stimulation leads to an increase in their protein and carbohydrate content and a decrease in the level of lipids in the flesh of oysters after ripening.

**Keywords:** Ripening, *Crassostrea gigas*, nutritional quality, *Chlorella sp*, mixotrophie, autotrophie.

# *Business Model Canvas*

## **Introduction**

Dans le cadre de l'arrêté ministériel 1275, nous avons bénéficié d'une formation en entrepreneuriat au sein de l'incubateur de notre école afin d'être capables de créer une startup basée sur notre sujet d'étude. Ce mémoire de fin d'études porte sur l'amélioration de la qualité nutritive des huîtres creuses. Notre ambition dépasse le cadre académique. Nous souhaitons concrétiser ces connaissances en créant une startup spécialisée.

Après notre étude approfondie de ce qui manque dans le secteur de l'aquaculture, en termes de services, de projets, de structures et autres. Nous sommes arrivés à l'un des problèmes les plus importants dans le domaine de l'élevage de bivalves, en particulier des huîtres dont les naissains sont considérés comme une matière première importante et une brique de base pour que les conchyliculteurs et particulièrement les ostréiculteurs puissent exercer leurs activités.

En revanche, le deuxième problème est l'absence totale sur le marché Algérien des micro algues marines qui sont le premier maillon de la chaîne alimentaire des animaux marins.

En tant qu'ingénieurs en aquaculture, notre premier rôle est de modéliser des solutions aux problèmes et aux lacunes que le secteur connaît dans notre pays.

Comme solution, nous avons décidé de tracer une feuille de route pour créer et gérer efficacement un mini-établissement pour fournir les naissains et les micro-algues marins en créant un marché local.

## **Alga-spat**

Alga-spat est une entreprise Algérienne conchylicole (Startup) qui a pour but de commercialiser les **naissains d'huîtres creuses** diploïdes et produire des micro-algues marines. Cette entreprise bénéficie d'une solide expertise en termes d'écloserie et nurserie d'huîtres creuses. A partir de géniteurs et souche algale sélectionnés et suivant une traçabilité rigoureuse, Alga-spat garantira les performances de croissance et de survie optimale pour des **naissains d'huîtres et des micro-algues** résistants et de qualité.

### **BUT DU PROJET :**

Nous cherchons à rendre notre projet suffisamment performant pour pallier l'absence de (Naissains, micro algales marins) sur le marché Algérien et accéder à une part de marché significative ou bien couvrir les besoins de marché.

### **VALEURS AJOUTÉES :**

Le but majeur de la réalisation de ce projet est de couvrir le manque du marché Algérien en naissain (par la création d'une écloserie de bivalves) et la création d'un marché local de micro-algales marines.

- Alga-spat sera le pionnier et le premier et unique partenaire sur le marché algérien à travers ses produits
- Alga-spat va créer un marché commercial national pour ses clients
- Alga-spat présentera de nouveaux produits et créera une nouvelle expérience dans le domaine
- Alga-spat apportera des solutions à l'un des plus gros problèmes du secteur aquacole en Algérie à savoir l'absence de naissains d'huîtres.
- Alga-spat fournira des produits de qualité et travaillera à cultiver les meilleures souches sélectionnées de microalgues marines et à les introduire sur le marché algérien.
- Alga-spat résoudra le problème de l'importation des naissains en Algérie.

## **ÉQUIPE DE TRAVAIL :**

- Propriétaire d'idée de projet : 02 ingénieures d'état en Aquaculture.
- 02 laborantins (biologiste et chimiste).
- 06 agents polyvalents.

## **LE MARCHÉ :**

Nos clients ciblés sont les fermes aquacoles des bivalves dans le but de couvrir leurs besoins en naissains. Nous visons également les fermes piscicoles spécialisées en aquariophilie pour notre produit en micro-algues marins.

- **Fermes conchylicoles au niveau national:**
  - SARL Orca marine Ager.
  - CULTURE MARINE Tipaza.
  - SARL AQUATIC TINA MARINE Ain témouchent.
  - SARADOUNI Ilyas Tizi Ouzou
  - SARL AQUA PARQ PECHE Oran.
  - SARL AQUA COMPANY Mostagenem.
- **Fermes piscicole spécialisée en aquariophilie:**
  - AQUASHIP-PRO Baba-ali Alger.
  - Garden Aqua Alger
- **Ecloseries piscicoles.**
- **Producteurs d'ARTEMIA**
- **Producteurs de fertilisants naturels**
  - Atlas alga Oran.

## **MESURES D'INTENSITÉ DE CONCURRENCE :**

L'avantage dans notre projet est l'absence totale de concurrence au niveau national. Il existe des revendeurs étrangers habitués à fournir le produit sur le marché qui sont : les producteurs français des naissains et micro-algales (France naissain)

- Points forts de concurrent : sont considérés comme un ancien partenaire pour la clientèle Algérienne.
- Points de faibles de concurrent : leurs produits sont généralement de mauvaise qualité et à prix élevé.

## **STRATÉGIE DE MARKETING :**

Pour la commercialisation de nos produits, nous veillons à garantir la qualité du produit et à faciliter l'accès du produit au client, soit en le vendant directement depuis notre point de vente, soit en le livrant directement après confirmation de la commande par le service de livraison Yalidine ou autres. Avec l'utilisation de stratégies qui attirent le client, comme l'obtention de remises importantes après plusieurs achats ou des packages gratuits supplémentaires du produit dans le cas où le client est habitué à acheter notre produit, et le plus important reste la qualité et le prix raisonnable de notre produit.

Désignation	Qté	Prix U.	Total HT
<b>Exploitation Aquacole-Grossissement</b> Bassin en géo membrane 21M diamètre GEOTANK	1	860.000 DA	860.000 DA
<b>Travaux d Entretien-Station Pompage</b>  f/P Pompe axe horizontale 200M3/H avec clapé, réduction, crépine et vanne y compris toutes subjection de montage et fixation	1	658.000 DA	658.000 DA
<b>Exploitation Aquacole-Algoculture</b> <b>Culture</b> des micro-algues bassin rectangulaire de 0,5 m de hauteur, unité par le metre carrée	65	1.400 DA	91.000,00 DA
<b>Exploitation Aquacole-Ecloserie</b>  4. F/P paillasse de travail un poste	1	180.000 DA	180.000 DA
Filtre mécanique en PEHD DN 80	1	225.000 DA	225.000 DA
Pompe submersible de 25M3/H	1	60.000 DA	60.000 DA
<b>autre catégorie.</b> Table en inox 2X1m	2	45.000 DA	90.000 DA
<b>Roulotte de travail</b>  1. F/P une baraque de travail en structure liéger NT38 et profile 30/60 y compris toutes subjection de finition	12	12.000 DA	24.000 DA
<b>Exploitation Aquacole-Ecloserie</b>  montage d une serre agricole 40X8 en bâche PVC avec soubassement en G béton sur 1m de hauteur	1	850.000 DA	850.000 DA
<b>Travaux de Construction</b>  Bloc administratif  structure légère, unité par mètre carrée	16	22.000 DA	352.000 DA

F/P stérilisateur UV 32W 1'3/4	1	160.000 DA	160.000 DA
installation et mise en marche d'un system réchauffement d'eau en tube PPRC 32	1	140.000 DA	140.000 DA
aquarium cylindrique en PMMA 0.6m*1m	18	45.000 DA	810.000 DA
F/P filtre à sable 20M3/H	1	250.000 DA	250.000 DA
Bac rectangulaire polythélène BI-COUCHE 90x60x20	22	25.000 DA	550.000 DA
installation et mise en marche d'un system hydraulique en tube U-PVC 40	1	180.000 DA	180.000 DA
Batterie de deux étages pour aquarium 2m*2m*0.5m	3	55.000 DA	165.000 DA
Souffler d'air 1KW	1	125.000 DA	125.000 DA
chaudière 48KW un kit complet préinstallé	1	1.200.000 DA	1.200.000 DA

Total HT	7.090.000 DA
TV 19%	1.347.100 DA
Total CCT	8.437.100 DA

Coût du Projet sans les dépenses annuelles : 8.437.100 DA

Coût du Projet total pour la première année : 12.779.100 DA

<b>Estimation du coût pour 1kg de naissains</b>	
<b>Les géniteurs</b>	200 DA
<b>Emballage</b>	3 DA
<b>Micro algues</b>	Entre 250 DA et 350 DA
<b>Livraison</b>	Entre 55 DA et 75 DA
<b>Coût total</b>	Entre 508 DA et 628 DA

<b>Estimation du coût pour une boîte (250mL) de micro algues.</b>	
<b>Souche</b>	200 DA
<b>Emballage</b>	15 DA
<b>Milieu de culture</b>	75 DA
<b>Livraison</b>	15 DA
<b>Coût total</b>	305 Da

## Estimation des revenus

L'estimation des revenus de ce projet pour 500 boites (250ml) par mois est comme suivant :

	<b>1boite</b>	<b>par mois</b>	<b>par an</b>
<b>Chiffre d'affaire</b>	<b>2000 DA</b>	<b>1.000.000 DA</b>	<b>12.000.000 DA</b>
<b>dépense</b>	<b>305DA</b>	<b>152.500DA</b>	<b>1.830.000DA</b>
<b>Gain</b>	<b>1695DA</b>	<b>847.500 DA</b>	<b>10.170.000DA</b>

L'estimation des revenus de ce projet pour 4 tonnes des naissains de 4 cycles par an est comme suivant :

	<b>1kg</b>	<b>par cycle</b>	<b>par an</b>
<b>Chiffre d'affaire</b>	<b>1500da</b>	<b>1.500.000 DA</b>	<b>6.000.000 DA</b>
<b>dépense</b>	<b>628DA</b>	<b>628.000DA</b>	<b>2.512.000DA</b>
<b>Gain</b>	<b>872DA</b>	<b>872.000DA</b>	<b>3.488.000DA</b>

<b>Coût du Projet total</b>	<b>dépense annuel</b>	<b>Charges annuel</b>	<b>Gain annule total</b>	<b>Gain nette par an</b>
<b>12.779.100 DA</b>	<b>4.342.000 DA</b>	<b>5.610.000 DA</b>	<b>13.658.000 DA</b>	<b>8.048.000 DA</b>

## Business Model Canvas

Partenaires clés	Activités Clés	Propositions de valeur	Relation Client	Clients	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• ANAD</li> <li>• Fournisseurs de la souche micro algales ( <b>Teramer</b> )</li> <li>• Fournisseurs des géniteurs des huîtres (ferme aquacole ORCA marine).</li> <li>• <b>CACQE</b> le centre Algérien du contrôle de la qualité et de l'emballage.</li> <li>• <b>LNCAPPASM</b> le centre nationale dz contrôle et analyse des produits de la pêche et d'aquaculture et la salubrité des milieux .</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La production et commercialisation des micro-algues marines</li> <li>• La production et commercialisation les naissains d'huîtres creuses.</li> </ul>	<p><b>Alga-spat :</b></p> <p>Sera le pionnier et le premier et unique partenaire sur le marché algérien à travers ses produits.</p> <p>Va créer un marché commercial national pour ses clients</p> <p>Apportera des solutions à l'un des plus gros problèmes du secteur aquacole en Algérie</p> <p>Fournira des produits de qualité, et travaillera à cultiver les meilleurs souches sélectionnées de micro-algues marines et à les introduire sur le marché algérien.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Site web ; Service clientèle réactif et attentionné pour répondre aux questions et préoccupations.</li> <li>• Pages Facebook et Instagram.</li> <li>• Cartes de fidélité pour récompenser les clients réguliers.</li> <li>• Établir des relations de confiance avec les clients en fournissant des services de haute qualité</li> <li>• Participation dans les expositions.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Fermes conchylicoles au niveau national:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- SARL Orca marine Ager.</li> <li>- CULTURE MARINE Tipaza.</li> <li>- SARL AQUATIC TINA MARINE Ain témouchent.</li> <li>- SARADOUNI Ilyas Tiziouzou</li> <li>- SARL AQUA PARQ PECHE Oran .</li> <li>- SARL AQUA COMPANY Mostagenem.</li> </ul> </li> <li>• <b>Fermes piscicole specialise en aquariophilie:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- AQUASHIP-PRO Baba-ali alger</li> <li>- Garden Aqua Alger.</li> </ul> </li> <li>• <b>Ecloseries piscicoles</b></li> <li>• <b>Reproducteurs d'ARTEMIA</b></li> <li>• <b>Producteurs de fertilisants naturels</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Atlas alga Oran.</li> </ul> </li> </ul>	
	<b>Ressources clés</b>				<b>Canaux de distribution</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ressources humaines</li> <li>• Local</li> <li>• Exploitation Aquacole-Algoculture Culture</li> <li>• Exploitation Aquacole-Ecloserie</li> </ul>				<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vente en ligne via un site web dédié avec livraison à domicile.</li> <li>• Présence sur les plateformes de commerce électronique populaires.</li> <li>• Agence de livraison Yalidin .</li> </ul>

				<ul style="list-style-type: none"> <li>SAIDAL</li> <li>BIOFARM</li> </ul>
<b>Coûts</b>		<b>Revenus</b>		
Coût du Projet sans les dépens annuels : 8.437.100 DA Dépense annuelle 4.342.000 DA.  ➤ <b>Coût total de projet : (12.779.100,00 DA)</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Vente directe.</li> </ul> ➤ <b>Chiffre d'affaires : (18.000.000,00 DA)</b>		

## **Conclusion**

Notre Business Model Canvas met en évidence une opportunité prometteuse pour réaliser notre startup spécialisée dans la production et la commercialisation de naissains d'huitres creuses et des micro-algues marins.

Grâce à notre formation en entrepreneuriat et à notre expertise dans ce domaine, nous sommes convaincus que notre entreprise peut apporter sur le marché une valeur ajoutée. Notre marché cible comprend Fermes conchylicoles au niveau national, fermes piscicoles spécialisée en aquariophilie, écloseries piscicoles, producteurs d'ARTEMIA.

Nous prévoyons d'établir des canaux de distribution directs en établissant des partenariats stratégiques, en participant à des événements professionnels et en exploitant les canaux en ligne.

Notre source de revenus proviendra principalement de la vente de nos produits : micro-algues marins et naissains directement, en ligne ou par livraison. Nous offrirons des tarifs compétitifs en fonction de la valeur que nous apportons à nos clients et des coûts associés à la prestation de nos services.

En conclusion, notre Business Model Canvas démontre la viabilité et le potentiel prometteur de notre startup spécialisée dans la réalisation d'une écloserie de Bivalves avec unité de production de micro-algues marins. Nous sommes déterminées à rechercher des sources de financement afin de concrétiser notre projet.