

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر و تهيئة الساحل
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du
Littoral



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
D'ETUDES UNIVERSITAIRES APPLIQUEES (D.E.U.A.) EN SCIENCES DE
LA MER**



Sujet :

Culture de deux micro algues : *Chlorella sp* et *Spirulina platensis*
pour
l'utilisation d'un élevage larvaire

Préparé par :

- CHARMAT Amina
- DERRAB Naima

Présenté à la commission de jury suivante:

M. elle Ould'Ahmed. N.....Examineur
M. Belhasnat. K Promoteur

-Session Juin 2009-

| | |
|---------------------------|----------|
| Introduction | 1 |
|---------------------------|----------|

I. Généralité

| | |
|--|-----------|
| 1- Systématique et morphologie | 3 |
| 1-1 Les micro algues d'eau de mer | 3 |
| 1-2 Les micro algues d'eau douce | 5 |
| 2- Biologie | |
| 3-1 Reproduction | 7 |
| 3-2 Photosynthèse | 7 |
| 3-3 Valeur alimentaire | 8 |
| 3- Ecologie générale | |
| 2-1 Répartition géographique | 10 |
| 2-2 Température | 10 |
| 2-3 Lumière | 10 |
| 2-4 Sels nutritifs | 10 |
| 2-5 Salinité | 10 |
| 2-6 pH | 11 |
| 4- Les conditions de culture | |
| 4-1 Condition physique | 11 |
| 4-2 Condition chimique | 12 |
| 5- Développement algal | 13 |

II. Matériels et méthodes

| | |
|--|-----------|
| 1- Equipement de culture | 16 |
| 2- Contrôle des paramètres de culture | 16 |
| 3- Les milieux de culture | 17 |
| 3- 1 MEYER | 18 |
| 3-2 PROVASOLI | 19 |
| 3-3 CFTRI | 20 |
| 4- Obtention des souches | |
| 4-1 Présentation des micro algues utilisées | 21 |
| ➤ <i>Chlorella sp</i> | 21 |
| ➤ <i>Spirulina platensis</i> | 21 |

| | |
|---|-----------|
| 4-2 Critères de choix | 22 |
| 4-3 Isolement des souches | |
| ➤ Sur un milieu liquide | 23 |
| ➤ Sur un milieu solide | 23 |
| 4-4 Purification des cultures | 23 |
| 5- Les types de culture | |
| 5-1 Culture en continue | 24 |
| 5-2 Culture successive | 24 |
| 6- Contrôle de développement algal | |
| 6-1 Méthode indirecte | |
| ➤ Densité optique..... | 26 |
| 6-2 Méthode directe | |
| ➤ Volume cellulaire | 26 |
| ➤ Mesure de poids | 26 |
| ➤ Comptage | 26 |
| 7- Méthode de récoltes | |
| 8-1 Centrifugation | 31 |
| 8-2 Coagulation et floculation | 31 |
| 8-3 Ultrafiltration | 31 |
| 8-4 Sédimentation | 31 |
| 8-5 Filtre après couche | 32 |
| 8-6 Micro tamisage | 32 |

III. Résultat et discussion

| | |
|---|-----------|
| 1- Les paramètres physico chimiques | 33 |
| 2- Croissance des micro algues | |
| ➤ <i>Chlorella sp</i> | 37 |
| ➤ <i>Spirulina platensis</i> | 40 |
| Conclusion | 44 |
| Références bibliographiques | 45 |
| Annexes | 48 |

Liste des tableaux

| | | |
|---------------------|--|----|
| Tableau : 01 | Analyse biochimique en pourcentage du poids sec de quelques algues..... | 9 |
| Tableau : 02 | Composition de milieu MEYER pour un litre d'eau distillée..... | 18 |
| Tableau : 03 | Composition de milieu PROVASOLI pour un litre d'eau distillée..... | 19 |
| Tableau : 04 | Composition de milieu CFTRI pour un litre d'eau distillée..... | 20 |
| Tableau : 05 | Caractéristiques des principales cellules de comptage..... | 27 |
| Tableau : 06 | Contrôle des paramètres physico chimiques de <i>Chlorella s p</i> dans les milieux MEYER et PROVASOLI..... | 33 |
| Tableau : 07 | Contrôle des paramètres physico chimiques de <i>Spirulina platensi</i> dans le milieu CFTRI | 35 |
| Tableau : 08 | Croissance de <i>Chlorella sp</i> dans deux milieu différents..... | 37 |
| Tableau : 09 | Croissance de <i>Spirulina platensis</i> dans le milieu CFTRI..... | 40 |

Les figures

| | | |
|--------------------|---|----|
| Figure : 01 | La reproduction chez les micro algues..... | 7 |
| Figure : 02 | Différentes étapes de la croissance chez les micro algues..... | 15 |
| Figure : 03 | L'armoire de culture..... | 16 |
| Figure : 04 | Le papier pH et le thermomètre..... | 16 |
| Figure : 05 | Les milieux de culture..... | 17 |
| Figure : 06 | Identification de <i>Chlorella sp</i> | 21 |
| Figure : 07 | Identification de <i>Spirulina platensis</i> | 22 |
| Figure : 08 | Deux milieux de culture | 25 |
| Figure : 09 | Quadrillage de quelques cellules de comptage..... | 28 |
| Figure : 10 | L'utilisation de la cellule de Nageotte..... | 30 |
| Figure : 11 | Milieu de culture de <i>Chlorella sp</i> | 34 |
| Figure : 12 | Milieu de culture de <i>Spirulina platensis</i> | 36 |
| Figure : 13 | Courbe de croissance de <i>Chlorella sp</i> dans deux milieu différents..... | 38 |
| Figure : 14 | Courbe de croissance de <i>Spirulina platensis</i> dans le milieu CFTRI..... | 41 |

En milieu naturel, qu'il s'agit d'eau de mer ou d'eau douce, les premiers maillons des réseaux trophiques sont phytoplanctoniques.

Les micro algues représentent le points de départ d'une chaîne alimentaire, le phytoplancton est donc à l'origine de la production en matière organiques des milieux aquatiques. (BOUGIS., 1974)

Les micro algues se présentent sous forme de cellules microscopiques autotrophes isolées ou réunies en colonie dont la taille varie de 0.2 à 100 µm et possèdent notamment de la chlorophylle pour permettre la photosynthèse.

La classification de grands groupes d'algues est basée sur leur composition pigmentaire d'où leur coloration.

(BRUNO de REVIERS., 2002)

Selon GAYRAL, 1975. BOURRELLY, 1990 et SILVA, 1982 et autres ; On distingue les quatre phylums suivants :

Les cyanophycées (Algues bleues)

Le nucléoplasme est diffus au sein du cytoplasme et non limité par une membrane différenciée, il renferme de la chlorophylle et des phycobiliprotéines. Les réserves sont du glucogène et des protéines

Les rhodophytes (Algues rouges)

Présence d'un pigment rouge : phycoérythrine qui masque la chlorophylle a ; ce pigment n'est pas fixé aux chloroplastes pendant la vie, il se diffuse dans l'eau lorsque l'algue meurt.

Les chromophytes (Algues brunes)

Leurs chloroplastes contiennent la chlorophylle a et d'autres pigments caroténoïdes bruns : la phycoxanthine.

Pendant la vie de l'organisme ce pigment masque les précédents, mais il disparaît lorsque l'algue meurt.

Les chlorophytes (Algues vertes)

Ont des plastes d'un beau vert franc et mettent de l'amidon en réserve ; cet amidon est logé dans les plastes.

Introduction

Les algues vertes possèdent les mêmes pigments que chez les végétaux supérieurs, tel que : chlorophylle a et b, xanthophylle, caroténoïde.

La production des algues répond à la demande alimentaire des animaux, l'utilisation comme produit cosmétique, la production de biogaz et aussi pour l'épuration de l'eau usée.

L'objectif de ce travail consiste à un essai de deux milieux de culture : MEYER, PROVASOLI pour la culture de *Chlorella sp* et le milieu CFTRI pour la culture de *Spirulina platensis*

A travers cette expérimentation on vise la maîtrise des techniques de culture des micro algues ; le contrôle de développement algal, les méthodes de récoltes, de distribution et la conservation sous forme déshydratée.

Ce présent travail se compose de trois chapitres principaux :

Le premier chapitre qui décrit la systématique, biologie et l'écologie des espèces utilisées en aquaculture, le deuxième chapitre représente les matériels et les méthodes utilisés pour les cultures des micro algues et se termine par le troisième chapitre qui concerne les résultats et la discussion.

I. Généralité

1-Systématique et morphologie des principales micro algues utilisées en aquaculture

1-1 Les micro algues d'eau de mer

| | |
|-----------------|----------------------|
| Embranchement : | Chromobiontes |
| Classe : | Diatomophycées |
| Ordre : | Coscinodiscales |
| Famille : | Coscinodiscaceae |
| Genre : | Skeletonema |
| Espèce : | Skeletonema costatum |



Skeletonema costatum

| | |
|-----------------|--------------------|
| Embranchement : | Chlorobiontes |
| Classe : | Euchlorophycées |
| Ordre : | Volvocales |
| Famille: | Polyblépharidaceae |
| Genre : | Dunaliella |
| Espèce : | Dunaliella salina |



Dunaliella salina

I. Généralité

Embranchement : Chlorobiontes
Classe : Euchlorophycées
Ordre : Chlorococcales
Famille : Coccomyxaceae
Genre : Nannochloris
Espèce : Nannochloris sp



Nannochloris sp

Embranchement : Chlorophytes
Classe : Parasinophycées
Ordre : Chloriphyceidae
Famille : Pyrminonaceae
Genre : Tetraselmis
Espèce : Tetraselmis suecica



Tetraselmis suecica

I. Généralité

1-2 Les algues d'eau douce

| | |
|-----------------|---------------------|
| Embranchement : | Cyanophytes |
| Classe : | Cyanophycées |
| Ordre : | Nostocales |
| Famille : | Oscilatriceae |
| Genre : | Spirulina |
| Espèce : | Spirulina platensis |



Spirulina platensis

| | |
|-----------------|------------------|
| Embranchement : | Chlorobiontes |
| Classe : | Chlorophycées |
| Ordre : | Volvocales |
| Famille : | Chlamydomonaceae |
| Genre : | Chlamydomonas |
| Espèce : | Chlamydomonas sp |



Chlamydomonas sp

I. Généralité

| | |
|-----------------|-----------------|
| Embranchement : | Chlorobiontes |
| Classe : | Euchlorophycées |
| Ordre : | Chlorococcales |
| Famille : | Oocystaceae |
| Genre : | Chlorella |
| Espèce : | Chlorella sp |



Chlorella sp

| | |
|-----------------|-------------------|
| Embranchement : | Chlorophyobiontes |
| Classe : | Chlorophycées |
| Ordre : | Chlorococcales |
| Famille : | Scenedsmuceae |
| Genre : | Scenedesmus |
| Espèce : | Scenedesmus sp |



Scenedesmus sp

I. Généralité

2- Biologie

2-1 La reproduction

La reproduction chez les micro algues se fait par deux voix de reproduction :

(BOURRELLY, 1979)

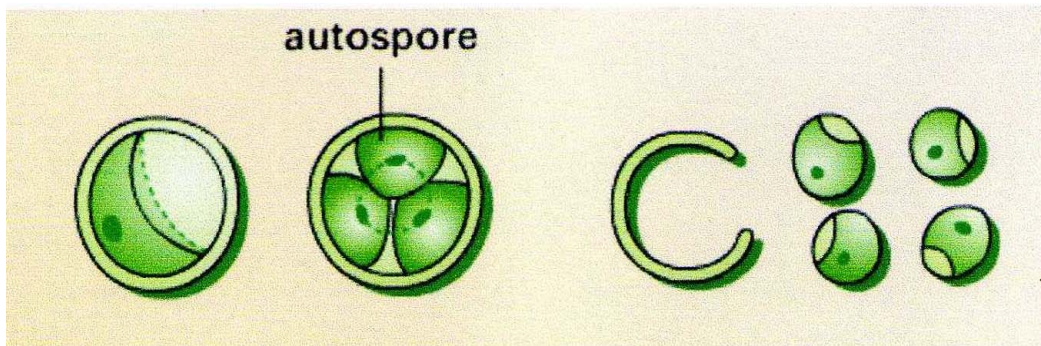


Figure : 01 **La reproduction chez les micro algues**
(BRUNO de REVIERS, 2002)

La reproduction asexuée :

Les micro algues se reproduisent soit par multiplication cellulaire chez les cyanophycées et la mitose normale chez les eucaryotes ; soit par formation des cellules spécifiques (sporulation).

La reproduction sexuée :

Les micro algues dans ce cas se reproduisent par l'interaction des gamètes de différente sexualité (males et femelle).

(GAYRAL, 1975)

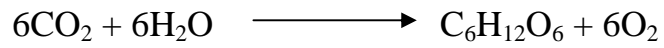
2-2 Photosynthèse

Les micro algues utilisent la lumière comme une source énergétique pour créer leurs propres substances des sels nutritifs par la photosynthèse.

(JACQUES, 1975. HARRIS, 1978)

I. Généralité

Equation de la photosynthèse



(LE BORGNE, 1985)

Résultat de la photosynthèse

- Production de la matière organique ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)
- Libération d' O_2

(BOUGIS, 1974)

2-3 La valeur alimentaire

Les protéines, les hydrates de carbone et les lipides sont les constituants principaux des algues de cultures.

(BARNABE, 1991)

I. Généralité

Tableau 01 : Analyse biochimique en pourcentage du poids sec de quelques algues

(FRANK H. HOFF et TERRY W. SNELL, 1987)

| Espèce | Protéine | Hydrate de carbone | Lipides | Pigments | Cendres |
|----------------------------|----------|--------------------|---------|----------|---------|
| <i>Skeltonema costatum</i> | 37 | 20.8 | 4.7 | 1.8 | 39 |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 31.6 | 6.4 | 3.0 | 7.6 |
| <i>Tetraselmis suecice</i> | 37 | 20.8 | 4.7 | 1.8 | 39 |
| <i>Chaeticeros sp.</i> | 35 | 60.6 | 6.9 | 1.5 | 28 |
| <i>Spiriluna platensis</i> | 70 | 18.0 | 8 | 1 | 3.7 |
| <i>Chlorella sp</i> | 45 - 50 | 302.35 | 10 | --- | 3 - 4 |

I. Généralité

3- Ecologie générale

3-1 Répartition géographique

Les algues sont des organismes chlorophylliens se trouvent là où les conditions nécessaires pour leur développement sont réunies: l'eau, l'air, la lumière et les sels nutritifs. (BOURRELLY, 1990)

Elles se trouvent dans les colonnes d'eau : les lacs, les étangs, les mers, les ruisseaux et les rivières. (DAUTA, 1982)

3-2 La température

La température est l'un des facteurs les plus importants pour tous les organismes aquatiques ; chaque espèce est caractérisée par sa température de tolérance, minimale, maximale et optimale pour assurer leur développement. (GAYRAL, 1979)

Les espèces qui tolèrent les variations de température saisonnière de grande amplitude sont dites Eurythermes, par contre les espèces Sténothermes qui ne supportent qu'une faible variation de température. (BARNABE, 1989)

3-3 La lumière

La lumière est un facteur très important pour la photosynthèse, elle agit aussi sur la répartition verticale des micro algues. (GAYRAL, 1975)

L'éclairement utile pour les algues est compris entre les longueurs d'ondes 400 et 700 nm, qui correspond au domaine visible. (G. JACKES, 2006)

3-4 Sels minéraux

Les sels nutritifs sont indispensables au développement du phytoplancton à des concentrations élevées, pour les macro éléments comme N, P, Si, Ca, Mg... et les micro éléments à des faibles concentrations qui jouent un rôle très important tel que : Zn, Mn... (BOUGIS, 1974)

Dans les eaux naturelles les sels nutritifs sont présents en quantité suffisante et quand elles dépassent certains seuils deviennent inhibitrices. (GAYRAL, 1975)

I. Généralité

3-5 Salinité

La salinité est définie comme étant la teneur totale de l'eau en sels dissous, la salinité élevée dans la colonne d'eau est due à la présence de la chlorure ; cette dernière est un

facteur très important lorsque la salinité élevée, elle élimine les algues d'eau douce et quand elle s'abaisse elle élimine les algues d'eau de mer. (GAYRAL, 1975)

Chaque espèce est caractérisée par ses variations de la salinité ; maximale, minimale et optimale, selon leur résistance à la variation de la salinité ; on distingue des algues Euryhalines qui résistent aux fortes variations de salinité et celle qui supportent aux faibles variations sont appelées : *Sténohalines* (LE BORGNE, 1986)

3-6 Le pH

Le pH de l'eau de mer est alcalin, généralement voisin de 8.2, il subit de faible variation (0.1 à 0.2) limité par le pouvoir tampon des sels d'acide faible, carbonate, hydrogène-carbonate.

La majorité des espèces tolèrent des variations de pH comprises entre 6 et 9, c'est-à-dire beaucoup plus important que celle enregistrées en milieu naturel. (BERNABE, 1989)

4- Les conditions de culture

4-1 Les conditions physique

➤ La lumière

Elle peut être naturelle ou artificielle par des tubes fluorescents, ces derniers sont presque universellement utilisés, car plus contrôlable, ne chauffe pas et certains peuvent avoir un spectre d'émission d'absorption des micro algues.

(FIALA, 1978. LAING et col, 1981. ROBIN, 1981)

Pour obtenir une production maximale, la lumière est fournie 24/24 h.

(AUDINEAU et col, 1986)

I. Généralité

➤ La température

Les températures qui conviennent le mieux aux cultures de phytoplancton sont autour de 18 à 22 °C pour la culture de la chlorelle, en dessous la croissance des cultures est ralenti, au dessus les équilibres sont difficiles à maintenir et les cultures sont plus fragiles. (LE BORGNE, 1986)

Les températures du liquide de culture influence directement la vitesse de croissance de la spiruline ; bien qu'assez résistante au froid (jusqu'à 3-5 °C), La croissance de la spiruline est au max vers 35-37 °C.

➤ L'agitation

Les cultures des micro algues ont tendance à se sédimenter. Il est nécessaire de les agiter quotidiennement manuellement ; en ce qui concerne les petits volumes jusqu'à 1 ou 2 litres.

Tandis que pour les volumes plus important on utilise l'agitation par bullage d'air qui à l'avantage d'apporter du CO₂ et stabiliser le pH. (FIALA, 1978).

Et aussi :

- Indispensable au processus de la photosynthèse pour la contribution de la biomasse.
- Mis en solution va réagir avec l'eau pour donner de l'acide carbonique puis s'ionise pour donner du bicarbonate (H₂ CO₃) qui stabilisera le pH et qui à tendance à augmenter (7.5 à 9) ce qui limite la croissance.
- Assure l'approvisionnement en carbone inorganique.

(AUDINEAU et col, 1986)

4-2 Les condition chimique

➤ Les sels nutritifs

Les teneurs en sels nutritifs utilisées en culture sont bien supérieures à celles retrouvées au milieu naturel. Cette teneur est calculée en fonction de la vitesse d'absorption des micro algues, qui dépend du taux de croissance de la population.

(BARNABE, 1991)

I. Généralité

Les éléments nutritifs majeurs sont :

- Azote : qui est assimilé sous forme de NH_4
- Phosphate : est employé sous forme de $\text{Na H}_2 \text{PO}_4$

- Silice : pour les diatomées, elle est apportée sous forme de Na SiO_3
- Micro éléments inorganiques : sous forme de sels $\text{Cl}_2 \text{SO}_4$

- Les principaux métaux utilisés sont : Fe, Cu, Mn, Zn.
- Les micro éléments organiques : trois vitamines sont généralement employés :
 - o La cyanocobalamine B_{12} .
 - o La thiamine B_1 .
 - o La biotine H.

➤ Le gaz carbonique

Pour les cultures très denses, le CO_2 apporté par l'air du bullage ne suffit plus et il est souhaitable d'ajouter un appoint de gaz carbonique. (BARNABE, 1986)

➤ Le pH

Avec le développement d'une culture d'algue, on constate une élévation du pH qui passe de 7.5 à 9, ce qui limite la croissance. (MOYSE, 1956)

Pour y remédier, il est possible d'ajouter de l'acide phosphorique (FIALA, 1978) mais un apport de gaz carbonique joue également ce rôle selon l'équation suivante :



Mis en solution, il va réagir avec l'eau pour donner l'acide carbonique, puis s'ioniser pour donner du bicarbonate qui stabilisera le pH.

(AUDINEAU et col, 1986)

➤ La salinité

La plus part des micro algues marines poussent à des salinités inférieures à celles de l'eau de mer naturelle ; 20 ‰ au lieu de 35 ‰, on peut alors effectuer des dilutions avec de l'eau douce.

(LE BORGNE, 1986. MCLACHLAN, 1973)

5- Développement algal

Les étapes de croissance d'une culture de micro algues sont identiques à celles des bactéries. On distingue quatre phases de croissance :

5 – 1 Phase de latence

Elle correspond à l'adaptation aux nouvelles conditions de culture ; Cette phase peut être très courte, moins de 24 heures. (LE BORGNE, 1986)

Plus la culture est âgée, plus la phase de latence est longue d'où la nécessité de repiquer la souche pendant la phase exponentielle.

(HELM et col, 1979. DAUTA, 1982)

5 – 2 Phase exponentielle

En cette phase, la croissance est la plus active où les cellules se divisent dans un temps caractéristique, appelé temps de division.
(FIALA, 1978)

Le développement de la population est exprimé par un taux de croissance.

5 – 3 Phase stationnaire

Pendant cette phase, la multiplication cellulaire est ralentie par un facteur limitant (Lumière, nutriment).

Le nombre de cellules est constant, ces derniers constituent leurs réserves intracellulaires.

(GREEN, 1973. FERNANDEZ et col, 1989)

5 – 4 Phase de décroissance

Dans cette phase il y a un arrêt total des divisions cellulaires, les cellules qui meurent ne sont plus remplacées.

(LE BORGNE, 1986. AUDINEAU et col, 1986)

I. Généralité

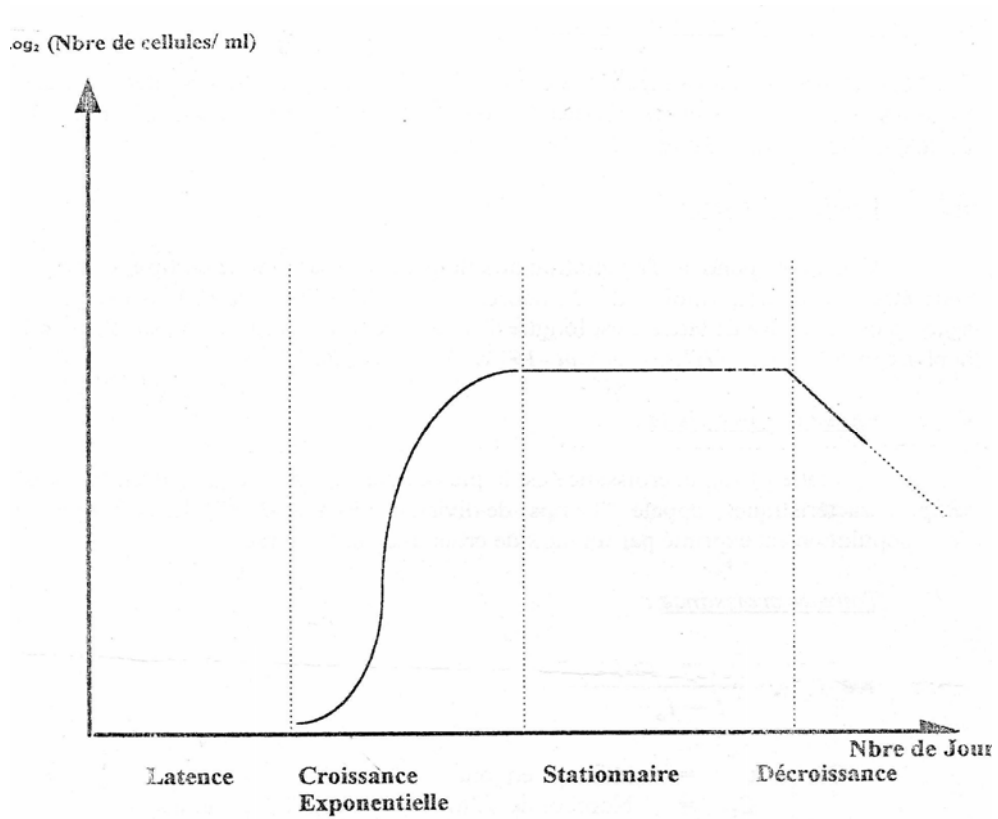


Figure : 02

Différentes étapes de la croissance des micro algues
(FRANK H. HOFF. TERRY W. SNELL, 1987)

II. Matériels et méthodes

1- Equipement de culture

La culture a été faite dans une armoire de culture équipée de :

- Des tubes gros lux pour la lumière
- Des pompes d'aération
- Des fioles pour la culture



Figure : 03 **L'armoire de culture**

2- Contrôle de paramètres de culture

La mesure des paramètres de la culture a été réalisée par le papier pH et le thermomètre.



Figure : 04 **Le papier pH et le thermomètre**

II. Matériels et méthodes

3- Les milieux de culture

Il existe plusieurs milieux de culture destinée à la culture des micro algues ; on cite les milieux suivants :

Le milieu de ERDSCHREIDER (MC LACHLAN, 1973).

Le milieu CONWAY (HELM, et COL, 1949).

Le milieu LEFEVRE (TASSIGUG M, 1968).

Le milieu de GRAIG et TELEASSE (PRESCOTTE, 1964).

Le milieu ZERROUK (R.D FOX, 1999).

(Voir annexes)

Dans notre cas on a utilisé les trois milieux de cultures suivants :



Figure : 05 **Les milieux de culture utilisés**

II. Matériels et méthodes

➤ Le milieu MEYER

Tableau 02: **Composition du milieu MEYER pour 1 litre d'eau distillée**
(L.VENKATARMAN, 1969)

| Eléments | Concentrations (g/l) |
|--|-------------------------|
| Nitrate de potassium K NO₃ | 1.210 |
| Sulfate de manganèse Mg So₄ | 2.460 |
| Phosphate de potassium monobasique K H₂ Po₄ | 1.230 |
| Sulfate de fer Fe (So₄)₃ | 0.052 |
| Citrate de sodium | 0.052 |

II. Matériels et méthodes

➤ Le milieu PROVASOLI

Tableau 03: **Composition du milieu PROVASOLI pour 1 litre d'eau distillée**
(FRANK H. HOFF. TERRY W SNELL, 1987)

| Solution | Eléments | Concentrations | Volume nécessaire |
|-------------|---|--------------------|-------------------|
| 1 | Nitrate de sodium Na NO₃ | 7.5 g pour 100ml | 1 ml |
| 2 | di- hydrogénophosphate de sodium Na H₂ Po₄ | 0.59 g pour 100ml | 1ml |
| Métallique | Chlorure de fer Fe Cl₃ | 0.31 g pour 100ml | 1ml |
| | Na EDTA | 0.436 g pour 100ml | |
| | -Sulfate de cuivre Cu So₄ : 1 g/100ml : 10ml -Molybdate de sodium Na₂ Mo₄ : 0.63 g/100ml : 10ml -Sulfate de zinc Zn So₄ : 2.2 g/100ml : 10 ml -Sulfate de cobalt Co So₄ : 1 g/100ml : 10 ml -Chlorure de manganèse Mn Cl₂ : 18 g/100ml : 10ml | | |
| Vitaminique | Tiamine (B₁) | 0.02 g | 0.5ml |
| | Cyanocobalamine (B₁₂) | Trace | |
| | Biotine (H) | Trace | |

II. Matériels et méthodes

➤ Le milieu CFTRI

Tableau 04 : **Composition du milieu CFTRI pour 1 litre d'eau distillée**
(VENKATARMAN. L, 1969)

| Eléments | Quantités (g/l) |
|---|----------------------------|
| Carbonate acide de sodium Na H CO₃ | 4.5 |
| Phosphate de potassium monobasique K₂ H PO₄ | 0.5 |
| Nitrate de sodium Na NO₃ | 1.5 |
| Chlorure de sodium Na Cl | 1.0 |
| Sulfate de magnésium Mg So₄ | 0.2 |
| Sulfate de fer Fe So₄ | 0.01 |
| Sulfate bi potassique K₂ So₄ | 1.0 |
| Chlorure de calcium Ca Cl₂ | 0.04 |

II. Matériels et méthodes

4– Obtention des souches

4-1 –Présentation des micro algues utilisées

➤ *Chlorella sp*

La Chlorelle est une algue microscopique, unicellulaire d'eau douce, sa taille varie de quelques microns à 20 µm au max, les cellules sont toujours solitaires et sphériques.

La Chlorelle se distingue des autres végétaux par une exceptionnelle concentration en chlorophylle.

La Chlorelle se caractérise par une paroi nue et lisse, avec un ou deux plastes.

(BOURRELLY, 1989).

Chlorella sp a été découverte en 1890 par un microbiologiste Hollandais : MARTINUS BEIJENICK.

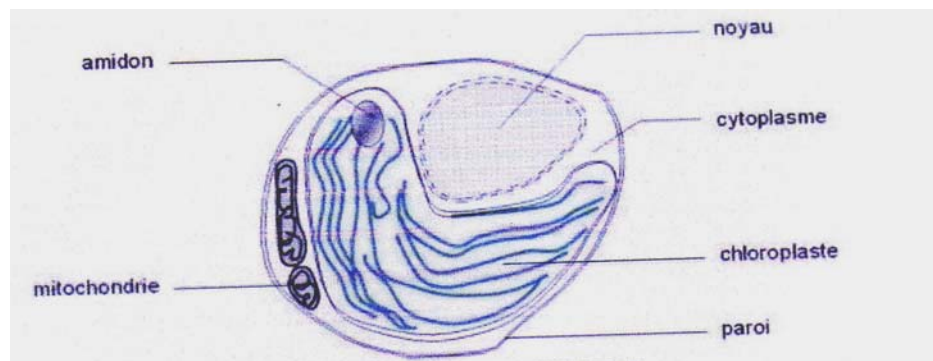


Figure 06: Identification de *Chlorella sp*

➤ *Spirulina platensis*

La spiruline est une algue microscopique, pluricellulaire de grande taille, elle se présente sous la forme d'un filament pluricellulaire appelé : trichome dépourvu de gaine.

La principale caractéristique est sa couleur bleu-vert, sa longueur moyenne est de 250 µm. (Ripley D. FOX, 1999)

II. Matériels et méthodes

Spirulina platensis a été découverte en 1964 par une équipe scientifique aux environs du lac Tchad.

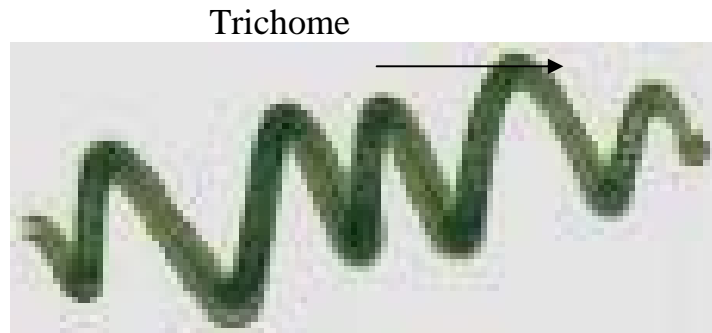


Figure 07 : **Identification de *Spirulina platensis***

4-2- Les critères de choix

Certaines conditions doivent être réunies pour qu'une espèce soit considérée comme une bonne source d'alimentation. Elle doit répondre aux conditions suivantes :

- ✓ Taille des cellules algales est un paramètre limitant à titre : le faible diamètre de la bouche et l'œsophage des larves empêche l'ingestion des particules de plus de 10 μm . Cependant la taille la plus recommandable est de 2 à 10 μm .
- ✓ La facilité d'élevage et un bon rendement sont aussi des facteurs très importants.
- ✓ Digestibilité : dans ce cas, la présence et l'épaisseur de paroi cellulaire ont des facteurs importants.
- ✓ Des métabolites toxiques sont produits par cératines algues donc elles ne peuvent être utilisées comme aliment.

(UTERMOHL. H, 1931)

II. Matériels et méthodes

4-3 Isolement des souches

Deux méthodes sont généralement utilisées :

➤ **Sur un milieu liquide**

A partir d'un échantillon observé au microscope, on peut prélever une goutte du milieu contenant, parmi d'autre la cellule recherchée, en répétant cette opération plusieurs fois et on arrive à isoler une goutte uni algale. (LE BORGNE, 1973. BERLAND, 1966)

➤ **Sur un milieu solide**

On utilise des boites de pétries de gélose et enrichie en milieu de culture (FIALA, 1978) on étalé sur la gélose à l'aide d'une pince de platine, une goutte contenant des cellules algales. (BACHAGRA. et al, 1997)

L'opération peut être reproduite plusieurs fois.

On peut également faire de repiquage successifs, en choisissant parmi les colonies qui se développent celle qui correspondent à la cellule recherchée (LE BORGNE, 1986) ; jusqu'à l'obtention d'un développement d'algue mono spécifique. (ANDINEAU, 1986)

4-4 Purification des cultures

D'après LE BORGNE, 1986 ; il convient d'éliminer les organismes présents dans l'eau qui peuvent entrer en compétition avec les micro algues ; pour rendre les cultures axéniques.

Pour cela on utilise différents types d'antibiotiques qui permettent de couvrir les spectres bactériens :

- La pénicilline G agit sur les Gram-.
- La streptomycine agit sur les Gram+.
- Le Chloramphénicol agit sur les deux.

(GUILLARD, 1973. AUDINEAU et col, 1986)

II. Matériels et méthodes

5– Les types de culture

Il existe deux types de cultures.

5-1 Culture en continue

Une fraction de la culture étant prélevée régulièrement pour être remplacée par de l'eau de mer enrichie.

Pour les petits volumes, les étangs de liquide peuvent être réalisés aseptiquement.

(AUDINEAU, 1986)

Les inconvénients de cette méthode résident dans la variabilité de la qualité des cellules récoltées puisque certains sont très âgés et d'autres jeunes.

(DE BILLY. G, 1978)

5-2 Culture successive

Dans ce procédé, la culture est récoltée en totalité à son stade de croissance maximale des animaux ou l'ensemencement d'autres cultures.

(ROBIN, 1981. HEMERICK, 1973)

Etapas pour le démarrage d'une culture des micro algues

Tube à essai – Erlin 250 ml – Erlin 500 ml – Erlin 2L – Erlin 5L – Chemostat 20L – Gaine 100 L.

(BARNABE, 1991)

II. Matériels et méthodes

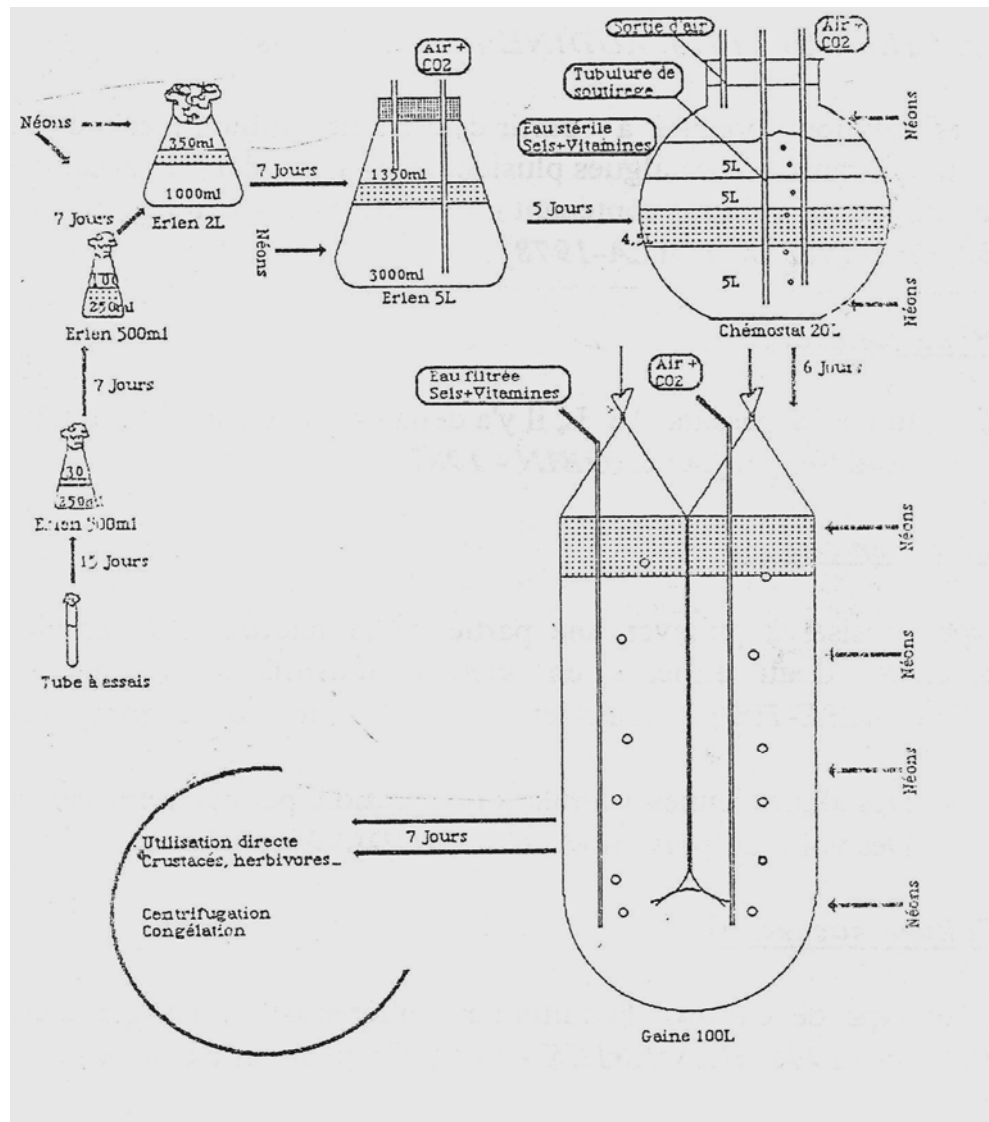


Figure 08 : Représentation schématique du processus de production de micro algue

(AUDINEAU et BLANCHITON, 1986)

II. Matériels et méthodes

6 - Contrôle de développement algal

6-1 Méthode indirecte

➤ Densité optique

On mesure la turbidité par photomètre ou de la chlorophylle par un spectrophotomètre qui mesure la pénétration de radiation d'une longueur d'onde de 680 nm et 750 nm, à travers un échantillon contenu dans une cuve en quartz. (FIALA, 1978)

On peut établir une correspondance entre la densité optique et la concentration cellulaire ; une variation consiste à mesurer la teneur en chlorophylle. (NEVEUX, 1978)

6-2 Méthode directe

➤ Volume cellulaire

On fait passer les échantillons dans une centrifugeuse et on mesure le volume concentrât de la culture centrifugée. (LE BORGNE, 1978)

➤ Mesure de poids

Après la centrifugation d'un volume assez important, on peut sécher l'échantillon au four puis peser son poids sec (FIALA, 1979) ; mais le processus est long et ne permet pas un diagnostic rapide. (JACQUES, 1987)

➤ Comptage

On peut utiliser un compteur manuel (BARNABE, 1986) sous un microscope optique à l'aide d'une cellule préférable. (AUDINEAU, 1986)

Les différentes cellules de comptage

Il existe différents types d'hématimètres ; on cite quelque exemple de cellules de comptage :

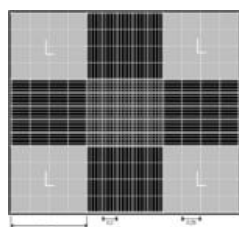
Thomas, Malassez, Neubauer, Nageotte, Lemaur, Fuchs-Rosenthal

II. Matériels et méthodes

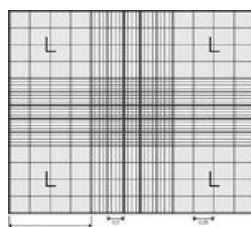
Tableau 05 : Caractéristiques des principales cellules de comptage.

| Types de cellules | Dimension L *l *P (mm) | Volume (ml) |
|--|-----------------------------------|------------------------|
| Thoma | 1 * 1 * 0.1 | 10^{-4} |
| Mallassez | 2,5 * 2 * 0,2 | 10^{-3} |
| Lemaur | 10 * 10 * 0,4 | 4.10^{-2} |
| Nageotte | 10 * 10 * 0,5 | 5.10^{-2} |
| Neubauer et Neubauer modifier | 3 * 3 * 0,1 | $9. 10^{-4}$ |
| Fushs Rosenthal | 4 * 4 * 0,2 | $32. 10^{-4}$ |

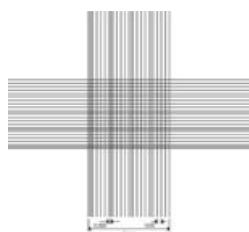
II. Matériels et méthodes



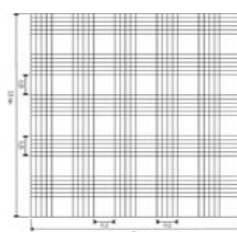
NEUBAUER MODIFIEE



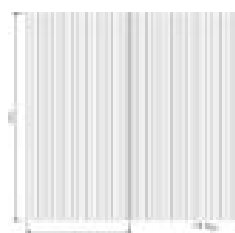
NEUBAUER



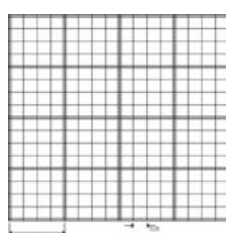
THOMA



MALASSEZ



LEMAUR



FUCHS-ROSENTHAL

Figure 09 : **Quadrillages de quelques cellules de comptages**
(Site web, google)

II. Matériels et méthodes

Dans notre travail, on a utilisé la cellule de Nageotte, un compteur manuel et un microscope optique.



Compteur manuel



Microscope optique



Cellule de Nageotte

II. Matériels et méthodes

Définition de la cellule de Nageotte

La cellule de Nageotte est une cellule de comptage composée par des colonnes verticale, ces derniers sont aussi divisée horizontalement en 40 colonnes, le volume de la cellule de Nageotte est de 50 μ l.

L'objectif de comptage

L'utilisation de la cellule de Nageotte consiste a compter le nombre de cellules trouvées dans certains volume de culture, ce comptage a été répété dans notre cas une fois dans les deus jours.

L'utilisation de l'hématimètre

A l'aide d'une pipette pasteur, une goutte de culture a été prélevé et mit sur la cellule de Nageotte et faire coller par la lamelle.

On compte combien de cellules trouvées dans l'hématimètre (par le compteur manuel) et fur et a mesure le passage de la mise en points soit a droite ou a gauche (on compte quatre colonnes ou plus).

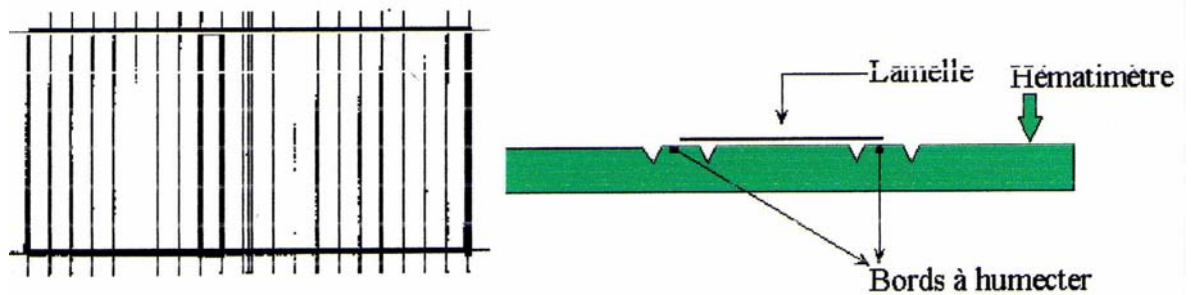


Figure 10 : L'utilisation de la cellule de Nageotte

II. Matériels et méthodes

7– Récolte des micro algues

Il existe différentes méthodes de récolte :

7-1 Centrifugation

Basé sur la légère différence de densité entre les algues et le milieu liquide, elle permet d'extraire 80 à 90 % de ces végétaux, en 2 à 5 minute, a des accélérations de 500 à 1000. (BARNABRE, 1986)

La centrifugation varie de 2 à 6000 tours par minute pour un débit d'un m³/h.

(AUDINEAU et col, 1986)

Beaucoup d'espèces qui sont nécessaires, après une étape de pré concentration de centrifuger, l'échantillon pour diminuer son taux d'humidité.

7-2 Coagulation et floculation

Les floes d'algues qui se constituent en sein du milieu liquide sous l'action des additifs ci-dessus peuvent être amener à la surface par les techniques de flottation ou décantés dans un décanteur traditionnel. (BARNABRE, 1986)

La farine d'algue aussi obtenue est utilisable en alimentation animale, compte tenu de sa haute teneur en protéine.

La récupération du flocculants peut être envisagé dans une opération à grande échelle.

(SHELEF et col, 1977)

7-3 Ultrafiltration

L'ultrafiltration sur séparateur à membrane est une solution sans doute efficace, mais actuellement plus coûteuse que la centrifugation. (LE BORGNE, 1986)

7-4 Sédimentation

Il s'agit d'un processus naturel qui a trouvé des applications très diverses :

La Chlorelle placée dans des bacs a tendance à se sédimenter. (UTERMOHT, 1931)

II. Matériels et méthodes

7-5 Filtre après couche

C'est l'utilisation pour filtrer les teneurs; ce filtre serait le seul qui permettrait la collecte des *Scenedesmus* à échelle atomique.

(LE BORGNE, 1986)

7-6 Micro tamisage

Le micro tamisage proposé depuis longtemps par plusieurs auteurs, compte tenu des grandes quantités de liquide que l'on peut traiter à faible coût, n'apporte pas une réponse vraiment satisfaisante.

(BARNABE, 1986)

III. Résultats et discussions

1- Paramètres physico chimiques

Tableau 06: Contrôle des paramètres physico chimiques de *Chlorella sp* dans les milieux MEYER et PROVASOLI

| Les paramètres Les dates | Température (°C) | pH | | Lumière (Lux) |
|-----------------------------|---------------------|-----------------|---------------------|------------------|
| | | Milieu MEYER | Milieu PROVASOLI | |
| 11/04/09 | 18 | 7.1 | 7.1 | |
| 13/04/09 | 18 | 7.1 | 7.1 | |
| 15/04/09 | 18 | 7.5 | 7.3 | |
| 18/04/09 | 19 | 7.8 | 7.4 | |
| 20/04/09 | 20 | 8.0 | 7.5 | 2000 à 4000 |
| 22/04/09 | 20 | 8.2 | 7.7 | |
| 25/04/09 | 21 | 8.5 | 7.9 | |
| 27/04/09 | 22 | 8.4 | 7.9 | |
| 29/04/09 | 22 | 8.3 | 8.1 | |
| 02/05/09 | 23 | 8.2 | 8.2 | |

III. Résultats et discussions

Lumière

Le suivi de la lumière n'a pas été réalisé par manque d'un luxmètre, la valeur a été estimée en fonction de nombre de néons utilisés dans les expérimentations antérieures (pour les deux milieux).

Température

Pour les deux milieux MEYER et PROVASOLI ; la température a été variable de 18 jusqu'à 23 °C, ce qui correspond à l'optimum de croissance pour la Chlorelle qui se situe entre 18 à 20 °C.

pH

La variation de pH dans le milieu MEYER varie de 7.1 et 8.5 ; cette variation est en relation avec la production des micro algues.

Les micro algues consomment le CO₂ ce qui provoque l'élévation de pH.

On ce qui concerne le milieu de PROVASOLI le pH varie de 7.1 et 8.2. Ce paramètre ne constitue pas un facteur limitant pour la croissance de la Chlorelle.



Figure : 11 Milieu de culture de *Chlorella sp*

III. Résultats et discussions

Tableau 07 : Contrôle des paramètres physico chimiques de *Spirulina platensis* dans le milieu CFTRI

| Les paramètres | Température (°C) | pH | Salinité (‰) | Lumière (Lux) |
|----------------|------------------|-----|--------------|---------------|
| Les dates | | | | |
| 04/05/09 | 32 | 8.1 | | |
| 06/04/09 | 32 | 8.2 | | |
| 09/05/09 | 33 | 8.5 | | |
| 11/05/09 | 33 | 8.5 | | |
| 13/05/09 | 33 | 8.6 | 15 | 4000 à 6000 |
| 15/05/09 | 34 | 8.9 | | |
| 18/05/09 | 34 | 9.1 | | |
| 20/05/09 | 35 | 9.1 | | |
| 23/05/09 | 35 | 9.4 | | |
| 25/05/09 | 36 | 9.5 | | |

III. Résultats et discussions

Lumière

L'utilisation des néons dans l'armoire de culture de la spiruline fournit de la chaleur ce qui favorise le développement.

Salinité

La salinité était constante pendant la durée de la culture : 15 ‰.

Température

La température enregistrée était de 32, 36°C (influence des néons), cette gamme de température correspond au référendum thermique de la Spiruline.

pH

Dans notre expérimentation le pH a varié entre 8.1 et 9.5. Pour la culture de la Spiruline le pH favorable est de 9.5 (Ripley D. FOX, 1999)



Figure : 12 Milieu de culture de *Spirulina platensis*

III. Résultats et discussions

➤ *Chlorella sp*

2- Croissance des micro algues

Tableau 08: Croissance de la Chlorella dans deux milieux différents

| Les densités | Milieu MEYER (cellules/ml) * 10 ³ | Milieu PROVASOLI (cellules/ml) * 10 ³ |
|--------------|---|---|
| Les dates | | |
| 11-04-09 | 360 | 149 |
| 13-04-09 | 656 | 224 |
| 15-04-09 | 1024 | 398 |
| 18-04-09 | 2101 | 420 |
| 20-04-09 | 2258 | 671 |
| 22-04-09 | 4795 | 704 |
| 25-04-09 | 6268 | 887 |
| 27-04-09 | 7023 | 819 |
| 29-04-09 | 6852 | 714 |
| 02-05-09 | 6097 | 687 |

III. Résultats et discussions

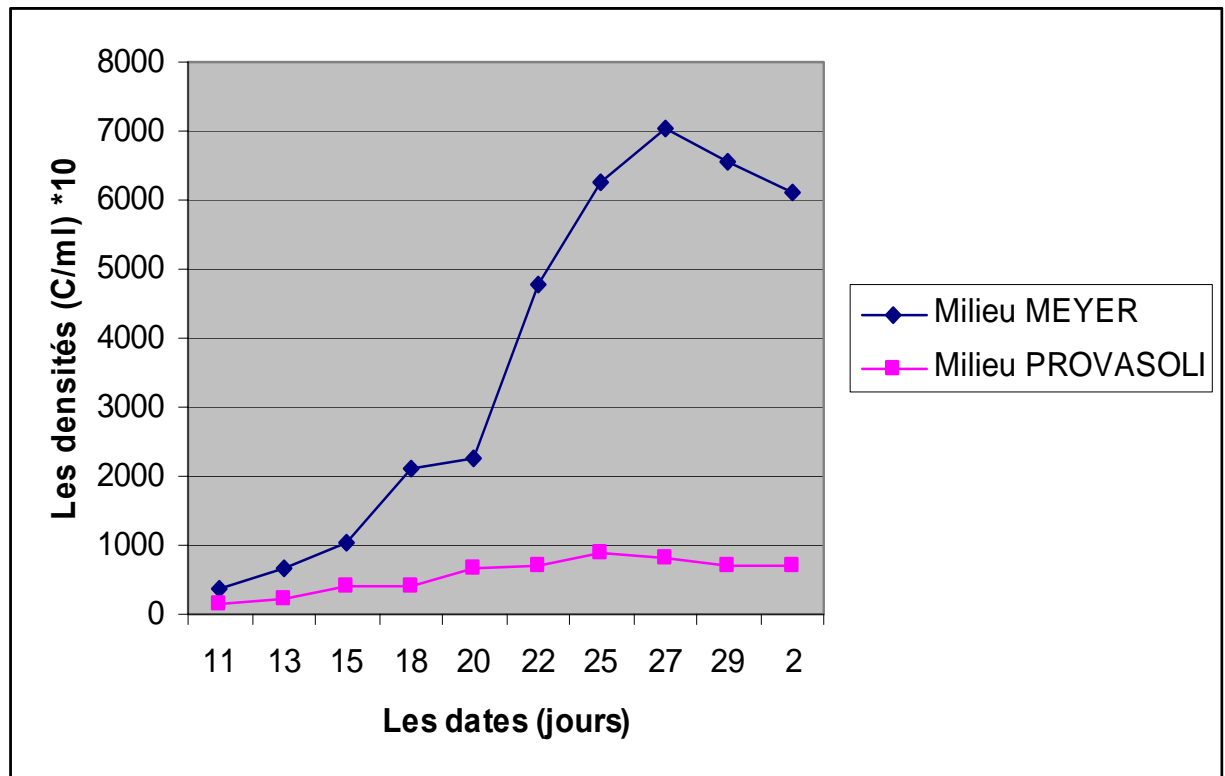


Figure : 13 Courbe de croissance de *Chlorella sp* dans deux milieux différents.

III. Résultats et discussions

➤ Interprétations

Chlorella sp dans le milieu PROVASOLI

Selon la courbe de croissance qui concerne *Chlorella sp* dans le milieu PROVASOLI (figure : 13), on constate une faible différence entre les étapes de développement.

La phase exponentielle a débuté après 7 jours de latence. La croissance était faible ce qui a rendu difficile la distinction entre les étapes de développement.

Le pic de croissance de la chlorelle est de 887000 Cellules/ml observé dans la phase stationnaire, cette dernière a durée 4 jours.

Chlorella sp dans le milieu MEYER

La figure : 13 montre le développement de *Chlorella sp* dans le milieu MEYER.

La phase de latence a durée 4 jours c'est le temps nécessaire pour l'adaptation des conditions de culture.

Les densités des cellules commencent à augmenter dans la phase exponentielle ; elle a durée 15 jours.

La concentration maximale de *Chlorella sp* est de 7023000 Cellules/ml pendant le pic de croissance.

Après ce pic les densités commencent à diminuer dans la phase de décroissance.

➤ Discussion

D'après les résultats obtenu la Chlorelle se développe mieux dans le milieu MEYER (7023000 cellules/ml) par rapport au milieu PROVASOLI (887000 cellules/ml).

III. Résultats et discussions

➤ *Spirulina platensis*

Tableau : 09 Croissance de *Spirulina platensis* dans le milieu CFTRI.

| Les densités | Milieu CFTRI |
|--------------|---------------------------------|
| Les dates | (cellules/ml) * 10 ³ |
| 04-05-09 | 594 |
| 06-05-09 | 782 |
| 09-05-09 | 1002 |
| 11-05-09 | 2444 |
| 13-05-09 | 3076 |
| 16-05-09 | 3282 |
| 18-05-09 | 3968 |
| 20-05-09 | 3612 |
| 23-05-09 | 3128 |
| 25-05-09 | 2838 |

III. Résultats et discussions

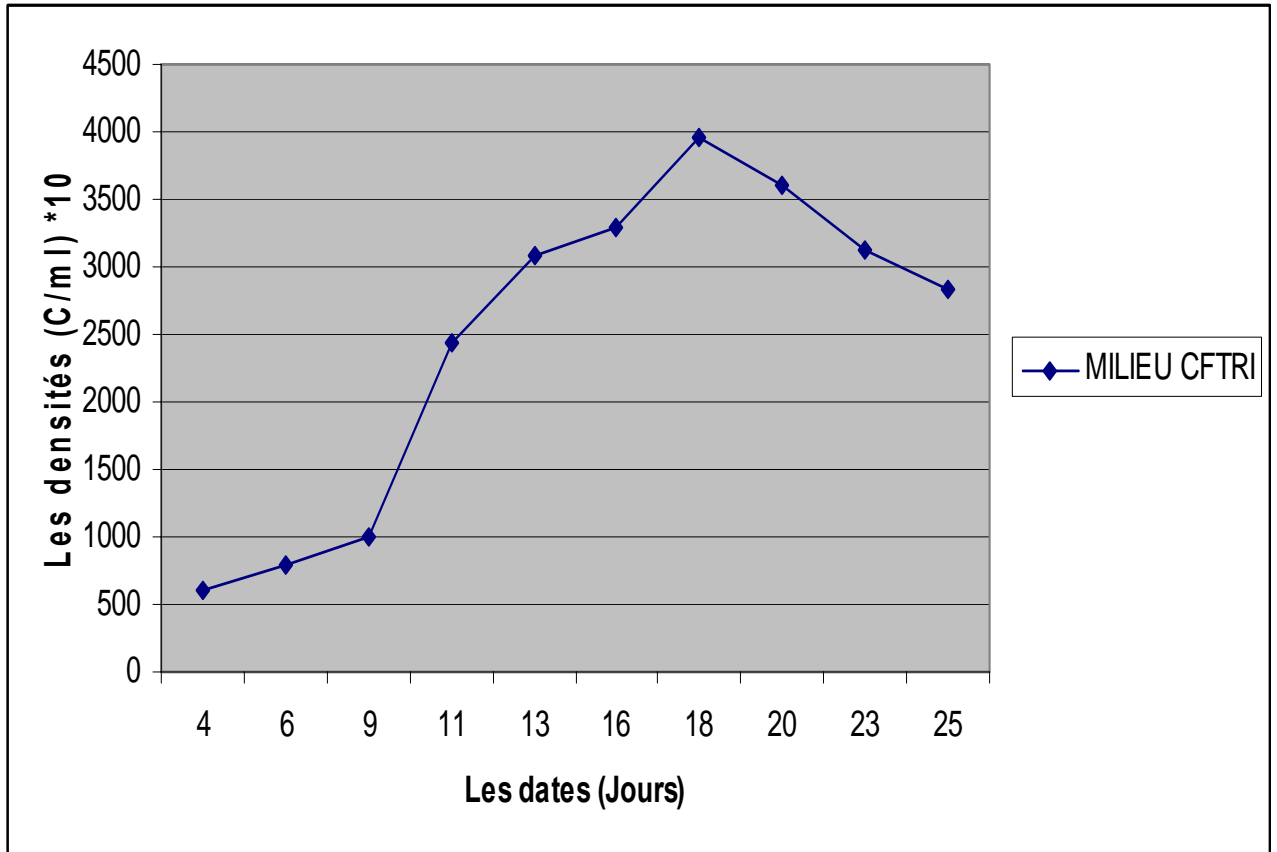


Figure : 14 Courbe de croissance de *Spirulina platensis* dans le milieu CFTRI

III. Résultats et discussions

➤ Interprétations

La figure : 14 décrit la croissance de *Spirulina platensis* dans le milieu CFTRI, la courbe de développement algal de la spiruline est subdivisée en quatre phases :

La première montre la phase de latence puis une phase exponentielle avec un développement remarquable d'une durée de 9 jours.

Arrivant à la phase stationnaire et un pic de 3968000 cellules /ml dans le quatorzième jour de comptage.

Après le quatorzième on observe une phase de déclin.

➤ Discussion

D'après les résultats obtenus on peut dire que le milieu CFTRI est favorable pour le développement de *spirulina platensis*.

3- Utilisation des micro algues

Les micro algues constituent le premier maillon de la chaîne alimentaire, elles sont utilisées :

Soit

- ❖ directement pour les mollusques et les crustacés.

- ❖ distribués à un certains zooplanctons puis à leur tour servent comme aliment pour les poissons.

- ❖ Utilisation dans les fabrications des produits cosmétiques.

Conclusion

L'utilisation des micro algues dans les bassins d'élevage répond au problème de la nourriture des alevins ; c'est le premier maillon de la chaîne alimentaire.

L'essai des milieux de culture nous a permis de montrer lequel de ces milieux est le plus favorable pour le développement algal.

Pour la culture de *Chlorella sp* on remarque que le milieu MEYER est préférable pour la croissance de cette espèce par rapport au PROVASOLI; et le milieu CFTRI pour la culture de *Spirulina platensis*.

Ces essais nous ont permis de maîtriser les conditions de culture et les différentes techniques de culture, de contrôle de développement, de récolte et de distribution des micro algues.

Les références bibliographiques

- AUDINEAU. P,** et **BLANCHETON. G., 1986.** Production d'algues unicellulaires. FREMER., Equipe MERE.A., *Station : DEVA-SUD* ; P : 1-19.
- BACHAGRA. A** et al., **1997.** Culture des micro algues, Mémoire d'étude universitaire appliqué en aquaculture *ISMAL*.
- BARNABE.G,** **1986.** Aquaculture- Tome 1 ; *Ed Lavoisier* ; P 181-192.
- BARNABE.G,** **1991.** Base biologique et écologique de l'aquaculture. *Edition Lavoisier Tec et Doc* ; P : 67-83.
- BOUGIS. P,** **1974.** Ecologie de plancton marin tome 1 ; P : 196.
- BOURRELLY. P, 1990.** Algues d'eau douce « algues vertes 1 » ; 572 P.
- BRUNO de REVIERS, 2002.** Biologie et phylogénie des algues tome 1 ; *Edition Belin* ; 600 P.
- DAUTA. A,** **1982.** Condition de développement du phytoplancton étude comparative du comportement de huit espèces en culture, Rôle des nutriments : Assimilation et stockage intracellulaire. *Annls. mmol.* 18 (3): 263-292.
- DAVIS. C. C., 1955.** The marine and fresh water. Michigan Station University Press. P: 53-68
- DE BILLY. G,** **1978.** Culture en continu in, **JACQUES, G.,** Phytoplancton, biomasse, production, numération et culture. *Edition Du castillet* ; P : 90-91.
- FERNANDEZ et col, 1989.** Biomass production and variation in the biochemical profile (Total protein, Carbohydrates, RNA, Lipids, and Fatty Acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture.* 83 ; P : 17-37.

-
- FIALA, M.,** 1978. Culture d'algue in, **JACQUES, G.**, Phytoplankton, biomasse , Production, numération et culture. *Edition Du castillet*; P : 77-87.
- FRANK H. HOFF, TERRY W. SNELL.,** 1987. Plankton culture manual; *fifth Edition* ; 159 P.
- GAYRAL. P,** 1975. Les algues, morphologie, cytologie, reproduction et écologie ; *DOIN éditeur* ; 165 P.
- GREEN. P. B.,** 1973. Intercellular growth rates in, phycological methods; P: 369-375.
- GUILLARD. R,** 1973. Methods for microflagellates and nannoplankton in, phycological methods; 69-86.
- HARRIS. G. P.,** 1978. Photosynthetises, productivity and Growth : the physiology of phytoplankton. *Erybnisse de Limnologie.* 10: 1-163.
- HELEM, M. M., et col,** 1979. The development of a 200 L algae culture vessel at Conway. *Fish. Res. Techn. Rep*; 53: 1-12.
- HEMERICK. G,** 1973. Mass culture in, phycological methods ; P : 255-266.
- JACQUES. G,** 1978. Phytolpacton ; biomasse, production, numération et culture ; *Ed. Du castillet* ; P 21-38.
- JACQUES. G,** 2006. Pêche et aquaculture ; pour une exploitation durable des ressources vivants de la mer et du littoral ; Presse Universitaire de rennes ; P : 191-295.
- LAING. et L** **HELM. M. M.,** 1981. Factors affecting the semi-continous production of *Tetraselmis suecica*: (kylin) *BUTCH*, in 200 vessels. *Aquaculture* 22: 131-320.

Les références bibliographiques

- LE BORGNE. Y,** 1986. La culture des micro algues in, **BARNABE.G,** Aquaculture. *TEC& DOC –Lavoisier*; P : 181-192.
- MCLACHLAN. J,** 1973. Growth media marine in, *phycological methods*; P 25-51.
- MOYSE. A,** 1956. Les bases scientifiques et perspectives nouvelles d'utilisation de la photosynthèse, la culture accéléré, d'algues, *Année Biologique*, 32 (3-4) : 101-128.
- NEVEUX. J,** 1978 Biomasse in, **JCQUES. G, 1975.** *Phytolpacton ; biomasse, production, numération et culture ; Edition Du castillet ;* P 21-38.
- PROVASOLI. L,** et al, 1957 The developpement of artificial media for marin algae. *Arch. Microbiol.* 25 ; P : 392-428.
- RIPLEY. D. FOX.,** 1999. Spiruline : techniques, pratiques et promesses ; *EDISUD* Edition; P : 117-120.
- ROBIN, J. H.,** 1981. Elevage annexe d'algue in, **BARNABE, 1986.** *Aquaculture marine nouvelle* 76: 13-17.
- SHELEF. C.,** SOEDER. C, 1987. Algae biomase, production and use in, **BARNABE,** *Base biologique et écologique de l'eau Edition lavoisier Tec et Doc ; P : 67-83 .*
- SILVA. P. C,** 1982. Chlorophycota in *PARKER,* synopsis and classification of living, in, **BOURRELLY. P.** *Algues d'eau douce « algues vertes 1 » : 572 P.*
- SOURNIA. A,** 1978. *Phytoplanton manual*; Edited by A. SOURNIA; museum National d'Histoir Naturelle, Paris; unesco; 335 P.

Les références bibliographiques

- THRONDSSEN. J, 1969.** Simple micropipette for use with the Wilde M 40 and the Zeiss plankton microscopes. J. Cons., *CIEM*, volume: 3, P: 430 in, **SOURNIA.**
- ULTERMOHL. H, 1931.** New wage in der quantitativen Erfassung des plankton, Verhandlungen det internationalen Vereinigung fur theoretische und angewandte limnologie P:567-596, in **JACQUES.**
- VENKATARMAN, 1969 .**The cultivation of algae ICAR (Indian Council of Agricultural Research) .P:237-245.

Les tableaux

➤ **Le milieu de EDRSCHRE (MC. LACHLAN, 1973)**

| Eléments | Concentrations ($\mu\text{m/l}$) |
|--|--|
| Nitrate de sodium Na NO₃ | 1.18 – 2.35 |
| Di hydrogénophosphate de sodium Na H₂ PO₄ | 56 – 140 |

➤ **Le milieu de LEFEVRE (TASSIGUG M, 1968)**

| Eléments | Concentrations (mg) |
|---|--------------------------------|
| Nitrate de potassium K NO₃ | 100 |
| Phosphate de potassium monobasique K H₂ PO₄ | 40 |
| Sulfate de manganèse Mg SO₄ | 30 |

Les concentrations sont diluées dans 100 ml d'eau distillée

➤ **Le milieu de CONWAY (HELM et col, 1979)**

| Solutions | Eléments | Concentration (g) | Volume nécessaire |
|--------------------|--|----------------------------------|--------------------------|
| Nutritive | Chlorure ferrique Fe Cl₃ | 1.30 | |
| | Chlorure de manganèse Mn Cl₂ | 0.36 | |
| | Acide borique H₃ BO₃ | 33.6 | 1 ml |
| | Na₂- EDTA | 45.0 | |
| | Di hydrogénophosphate de sodium (Na H ₂ PO ₄) | 20 | |
| | Ajuster à 200 ml d'eau distillée | | |
| Métallique | Chlorure de zinc Zn Cl₂ | 2.1 | |
| | Chlorure de cobalt Co Cl₂ | 2.0 | |
| | Ammonium heptamolybdate 6 (NH₄) MO₇ O₂₄ | 0.9 | 2 ml |
| | Sulfate de cuivre Cu SO₄ | 2.0 | |
| | Ajuster à 100 ml d'eau distillée | | |
| Vitaminique | Cyanocobalamine B₁₂ | 10 mg | 0.1 ml |
| | Thiamine B₁ | 200 mg | |
| | | Ajuster à 200 ml d'eau distillée | |

Le milieu de GRAIG et TELEASSE (PRESCOTT, 1964)

| Solutions | Éléments | Concentration (g/l) | Volume nécessaire |
|----------------------------------|--|--------------------------------|------------------------------|
| 1 | Nitrate de potassium K NO₃ | 7.6 | |
| | Sulfate de manganèse Mg SO₄ | 14.8 | 10 ml |
| | Phosphate de potassium monobasique KH₂PO₄ | 7.4 | |
| | Sulfate de fer Fe SO₄ | 8 | |
| | Ajuster à 100 ml d'eau distillée | | |
| 2 | Sulfate du zinc Zn SO₄ | 100 | |
| | Acide borique H₃ BO₃ | 100 | 10 ml |
| | Sulfate de magnésium Mn SO₄ | 150 | |
| | Sulfate de cuivre Cu SO₄ | 3 | |
| Ajuster à 100 ml d'eau distillée | | | |

Le milieu ZERROUK (VENKATARMAN, 1969)

| Solutions | Eléments | Concentration (g/l) |
|------------------|---|--------------------------------|
| A1 | Acide borique H₃BO₃ | 2.86 |
| | Chlorure de magnésium Mn Cl₂ | 1.80 |
| | Sulfate de zinc Zn SO₄ | 0.22 |
| | Sulfate de cuivre Cu SO₄ | 0.08 |
| | Sulfate di potassium de Crome (SO₄) K₂ Cr | 0.096 |
| A2 | Sulfate de nickel Ni SO₄ | 0.0477 |
| | Sulfate de tritium Ti (SO₄)₃ | 0.0400 |
| | Nitrate de cobalt Co NO₃ | 0.0044 |
| | Hydrogéno cobalt de sodium Na H CO₃ | 16 |
| | Phosphate de potassium monobasique K H₂ PO₄ | 0.5 |
| A3 | Nitrate de sodium Na NO₃ | 2.5 |
| | Sulfate de potassium K₂ SO₄ | 1 |
| | Chlorure de sodium Na Cl | 1 |
| | Sulfate de manganèse Mg SO₄ | 0.2 |
| | Chlorure de calcium Ca Cl₂ | 0.04 |
| | Sulfate de fer Fe SO₄ EDTA | 0.01 0.08 |

On rajoute 1 ml de chaque solution : **A₁** et **A₂** à 1L de solution **A₃**

Les photos



Bassin d'élevage.



Chlorella sp.



La nourriture des alevins 1.



La nourriture des alevins 2.



la

**Récolte de la chlorelle par
Sédimentation.**



Capture des poissons.