

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

*Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique*

*Institut de Science de la Mer et de  
l'Aménagement du Littoral*

# MEMMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME D'ETUDES UNIVERSITAIRE  
APPLIQUEE (D.E.U.A) EN BIOLOGIE DES PECHEES  
OPTION : AQUACULTURE

## THEME

LA CULTURE DES  
MICRO ALGUES

Présenté par : Mr. BECHAGRA ABDELAZIZ

Devant la commission du jury :

Mr. BELKASSA. R	.....	Président
Mr. SELLALI. B	.....	Examinateur
Mr. REFES. O	.....	Examinateur
Mr. BELHASNET. K	.....	(Promoteur)

- Année Universitaire 95/96 -

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b>	01
<b>I - GENERALITES</b>	02
<b>1 - SYSTEMATIQUE ET MORPHOLOGIE</b>	03
<b>2 - ECOLOGIE GENERALE</b>	05
2.1 Répartition géographique	05
2.2 La température	05
2.3 La lumière	05
2.4 Les sels nutritifs	05
2.5 La salinité	06
<b>3 - BIOLOGIE</b>	06
3.1 Photosynthèse	06
3.2 Reproduction	06
<b>4 - LA CULTURE DES MICROALGUES</b>	07
4.1 Milieux de culture	07
4.2 Conditions de culture	08
4.2.1 Conditions physiques	08
4.2.1.1 La lumière	08
4.2.1.2 La température	08
4.2.1.3 L'agitation	08
4.2.2 Conditions chimiques	09
4.2.2.1 Les sels nutritifs	09
4.2.2.2 Le CO <sub>2</sub>	09
4.2.2.3 La salinité	09
4.2.2.4 Le pH	09
4.2.3 La stérilisation	10

## **II - MATERIELS ET METHODES**

<b>1 - ETUDE DE LA CROISSANCE DE DEUX ESPECES DE MICROALGUE DANS DEUX MILIEUX DE CULTURE DIFFERENTS</b>	<b>21</b>
1.1 But	21
1.2 Matériels	21
1.2.1 Matériel biologique	21
1.2.2 Equipement	21
1.2.3 Milieux de culture	22
1.3 Méthodes	24
1.3.1 Filtration	24
1.3.2 Stérilisation	24
1.3.3 Préparation du milieu de culture	24
1.3.4 Paramètres physico chimiques	25
1.3.5 Culture	25
1.3.6 Comptage	26
1.4 Résultats et discussion	26
1.5 Conclusion	32
<b>2 - ETUDE DE LA CROISSANCE DE CHLORELLA SP. ET TETRASELMIS SUECICA DANS DIFFERENTES DILUTIONS D'AGRISPAN</b>	<b>33</b>
2.1 But	33
2.2 Matériel	33
2.3 Méthodes	33
2.3.1 Préparation des dilutions	33
2.3.2 Paramètres physico-chimiques	34
2.3.3 Culture	34
2.3.4 Comptage	34
2.4 Résultats et discussions	34
<b>3 - CONCLUSION GENERALE</b>	<b>42</b>

## **ANNEXE**

## INTRODUCTION

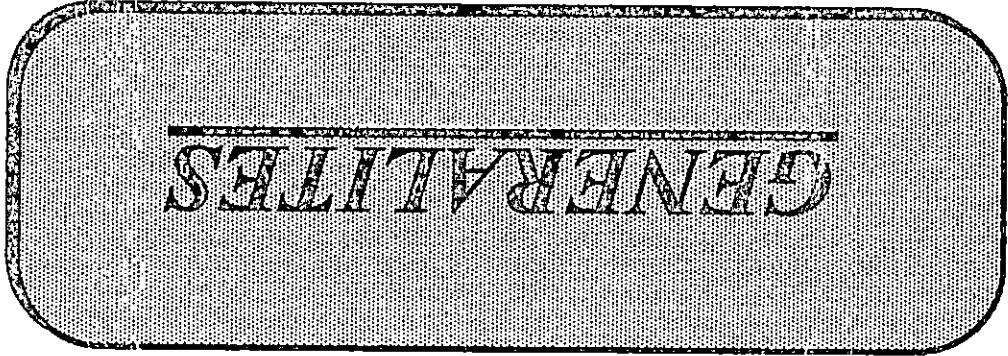
Les microalgues sont des organismes autotrophes, elles représentent le point de départ de la chaîne alimentaire et constituent le premier maillon de la production primaire (*RICHMOND.,1986*);

La production de ces algues répond à la demande alimentaire des animaux, soit en utilisation directe pour les filtreurs, soit indirectement par le relais des animaux proies, servant eux même à l'alimentation des larves des poissons et crustacés. (*FLASSCH. et col 1984, FERNANDEZ - REIRIZ et Col 1989. BELKOURA et Col -1992*). Beaucoup d'études ont été faites, sur la culture des microalgues, on cite :

- *BERLAND -(1966)*, sur la culture des diatomées.
- *GUERRI. et Col (1981)., RAVAIL et ROBERT (1985)., Col (1989)* sur les conditions physico-chimiques, des cultures des microalgues.
- *BELKOURA et Col (1994), DABADIE (1994)* sur la culture intensif, des microalgues.
- GUERIN - ANCEY, et Col ,(1978)* sur l'utilisation d'engrais agricole pour la culture des microalgues.

Le présent travail a comme objectif principal; l'étude comparative de deux milieux de cultures, l'un est celui de Provasoli qui est un milieu synthétique et l'autre Agrispon qui est un Fertilisant biologique, biostimulant métabolique composé: en plus des éléments ordinaires N.P.K d'ADN, ARN, extraits de tissus de plantes, régulateurs de croissance, vitamines et oligo-éléments.

A travers, cette expérimentation d'autres but sont visés; la maîtrise des méthodes d'identification des espèces, l'isolement des souches, la préparation de milieu de culture, la conduite d'une culture, le contrôle du développement algal, l'évaluation de la biomasse, la récolte des microalgues et leurs distributions.



Selon, *VIVIER et Col (1943)*, *GAYRAL (1975)*, et *BOURRELLY (1990)*. La classification de grand groupes d'algues est basée sur leur composition pigmentaire, et leur coloration, ce qui conduit aux quatre phylums suivants :

◦ *Les Chlorophytes* :

(*Algues Vertes*) dépourvues de pigments surnuméraires, dont les chloroplastes colorés en vert, sont formés de même pigments que chez les végétaux supérieurs: Chlorophylle, xanthophylle, carotène.

◦ *Les Chromophytes* :

(*Algues Brunes*) leurs chloroplastes contiennent non seulement la Chlorophylle, mais encore un pigment caroténoïde brun : la phycoxanthine. Pendant la vie de l'organisme ce pigment masque les précédents, mais il disparaît au moment de sa mort.

◦ *Les Rhodophytes* :

(*Algues Rouges*) chez lesquelles les pigments ordinaires sont mêlés au pigment surnuméraire de teinte rouge : la Phycoerythrine qui masque la chlorophylle. Ce pigment surnuméraire n'est fixé aux chloroplastes que pendant la vie; Lorsque l'algue meurt, il diffuse dans l'eau.

◦ *Les Cyanobacters* :

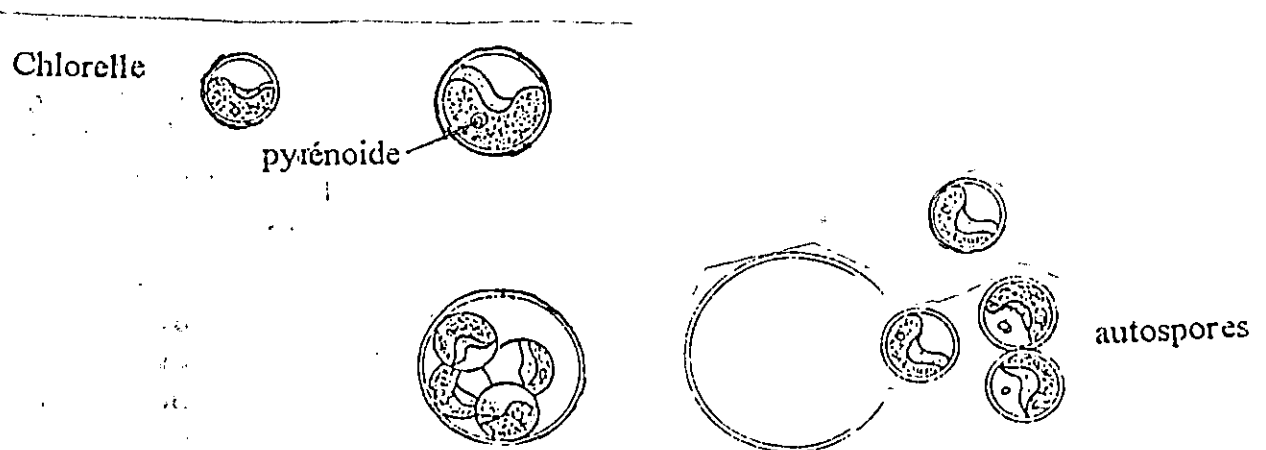
(*Algues Bleues*) malgré l'absence de plastes, de noyaux différenciés et de l'amidon ce groupe est également rattaché aux algues leur cytoplasme contient à l'état diffus de la chlorophylle associée à un pigment bleu, la phycocyanine (*BOURRELLY. 1979*).

# 1 - Systématique et Morphologie

## 1.1 - Chlorella sp. :

Embranchement	Chlorophycophyte
Classe	Chlorophycée
Sous classe	Chlorophycidae
Ordre	Chlorococcale
Famille	Oocytacée
Genre	Chlorella
Espèce	<u>Chlorella sp.</u>

La Chlorelle est une espèce d'eau douce, sa taille varie de quelques microns à 20 microns. Les cellules sont toujours solitaires, sphériques, à paroi nue et lisse, plastées en coupe (BOURRELLY. 1990). La reproduction se fait par autosporelation (*Tetraspores*) (Voir Figure - 1).



**FIGURE 1 : Autosporulation de la Chlorelle (GAYRAL - 1975).**

1.2 - *Tetraselmis suecica* (KYLIN) Butch :

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

*Tetraselmis suecica* est une espèce marine, se caractérise par : des cellules, solitaires libres, mobiles, comprimées latéralement, leur base est arrondie, possédant quatre flagelles de même taille, la paroi est lisse rigide, pyrenoïde bien visible (BOURRELLY - 1990) (Figure - 2).

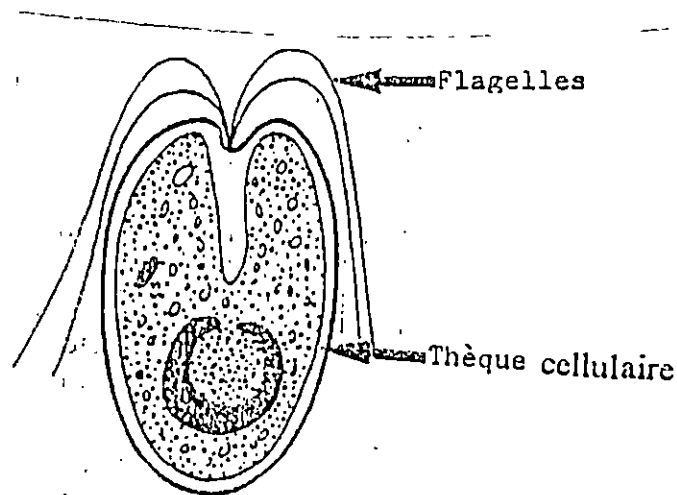


FIGURE - 2 : " Morphologie de *Tetraselmis suecica* " (BOURRELLY-1990)

## 2 - ÉCOLOGIE GÉNÉRALE

### 2.1 - Répartition géographique:

Les algues sont des organismes chlorophylliens ayant besoins d'eau, d'air, de lumière, et de sels nutritifs pour leurs développement (BANSE, 1976, GEIDE et Col. 1992).

Elles prospéreront partout où se trouvent réunies ces conditions c'est à dire, dans les lacs, les étangs, les marais, les mers, les ruisseaux, et aux rivières (DAUTA, 1982, BOURRELLY 1990). Leur développement dépendra également des facteurs biotiques c'est à dire, les espèces prédatrices et compétitrices (CAP BLANC 1982).

### 2.2 - La température :

Pour chaque espèce, il existe une température de tolérance, maximale, minimale et optimale pour son développement. Pour les espèces qui résistent à de larges variations de température sont dites, *Eurythermes*, par contre celle qui ne supportent que de faibles variations, sont dites *Sténothermes* (GAYRAL. 1975).

En général le phytoplancton a un pic de développement au printemps, et un deuxième pic un peu moins élevé en automne (BARNABE, 1991).

### 2.3 - La lumière :

La lumière est un facteur de très grande importance pour le phytoplancton, du fait qu'elle intervient dans la photosynthèse. Il existe, pour chaque espèce des microalgues, une illumination maximale, minimale et optimale pour son développement. Pour cela il existe, les espèces photophiles qui aiment une illumination importante, et les espèces sciaphiles qui n'aiment que de faible illumination (BELKOURA et Col. - 1994). La lumière agit essentiellement sur la répartition verticale des microalgues (GAYRAL. 1975).

### 2.4 - Les sels nutritifs :

Certains éléments fondamentaux sont nécessaires à des concentrations assez élevées sont les macro-éléments: N, P, Si, Ca, Mg... etc. D'autres jouent un rôle important mais à des faibles concentrations les micro-éléments : Cu, Mn, Zn, Fe ... etc (BOUGIS. 1974). (Voir Tableau: 02)

Ils sont pratiquement présents en quantité suffisante dans les eaux naturelles, il se manifestent par un effet inhibiteur lorsque leur concentrations dépasse un certain seuil (GAYRAL - 1975).

### 2.5 - Salinité :

La salinité exprime la teneur total, en sels dissous dans les eaux naturelles.

Des salinités élevées sont essentiellement dûes à la présence de Chlorures. La teneur en Chlorure est un facteur chimique de première importance, en effet lorsque la salinité s'élève. Elle élimine les algues dites d'eau douce, lorsqu'elle s'abaisse au dessous de certain valeur, elle élimine les algues marines, (GAYRAL. 1975).

Pour chaque espèce il existe une salinité, maximale, minimale, et optimale pour son développement. Les espèces qui résistent aux fortes variations de salinité sont dites *Euryhalines*, et celles qui ne supportent que de faibles variations sont dites, *Stenohalines* (RAVAIL - 1985).

## 3 - BIOLOGIE

### 3.1 La photosynthèse :

Les microalgues se servent de l'énergie lumineuse, pour construire leurs propres substances, à partir du sels nutritifs par photosynthèse (VIVIER et Col 1943, JAQUES, 1975, HARRIS. 1978).

L'équation de la photosynthèse peut s'écrire :



Où  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  est le glucose (LE BORGNE. 1986)

Il y a production de matière organique ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) et libération d' $\text{O}_2$  (MOYSE 1956, BOUGIS 1974).

### 3.2 Reproduction :

On rencontre chez les microalgues, les deux types de reproduction, la reproduction sexuée et la reproduction asexuée (LE. BORGNE et Col - 1974).

### 3.2.1 La reproduction asexuée :

Dans ce type de reproduction les microalgues se multiplient, sans qu'intervienne la sexualité soit, par multiplication cellulaire où les cellules se divisent par scissiparité dans le cas des cyanophycées (*BOURRELLEY - 1979*) et de division par mitose normale chez les *Eucaryotes* unicellulaires, (*DE TASSIGNY - 1968*), soit par formations des cellules spécialisées appelées *Spores* dont, la germination - aboutit à un organisme identique à celui qui l'a produit (*ROBIN - 1981*).

### 3.2.2 La Reproduction sexuée :

Elle est caractérisée par la mise en jeu de cellules spécialisées ou gamètes où l'union cytoplasmique et nucléaire de gamètes complémentaires, c'est à dire de potentialités différentes (Mâle et Femelle), forme l'oeuf dont le stock chromosomique est évidemment double de celui de chaque gamète (*GAYRAL - 1975*).

## 4 - LA CULTURE DES MICROALGUES :

La croissance d'une culture est contrôlée par un très grand nombre de facteurs dont les plus importants sont les conditions physico-chimiques et l'état physiologique des cellules (*MARKL - 1980 in BELKOURA et Col - 1992*).

### 4.1 Milieux de culture :

Afin de permettre un bon développement, le milieu de culture doit contenir les éléments suivants :

- Les microéléments métalliques : généralement ils sont sous forme Chélatés (*FIALA. 1978*).
- Les microéléments organiques : Vitamine B<sub>12</sub>, B<sub>1</sub>, et H (*AUDINEAU et Col, 1986*).
- Les éléments nutritifs majeurs : N.P et Si seulement pour les diatomées (*NICHOLS - 1973*).

Les milieux de culture couramment utilisés sont : (voir Annexe I)

- Milieu de *WALNE - 1966*, (*HELM et Col - 1979*).
- Milieu de *ERDSCHREIDER - 1927*, (*MCLACHLAN-1973*).
- Milieu de *MEYER -1947* (*VENKATARMAN - 1969*)
- Milieu de *CONWAY*, Rapporté par *HELM et Col -(1979)* d'après *WALNE, (1966)*, (*BARNABE - 1991*).
- Milieu de *PROVASOLI, 1968* (*MC LACHLAN - 1973*).

## 4.2 Conditions de culture :

### 4.2.1 Conditions physiques :

#### 4.2.1.1 La lumière :

La lumière artificielle est préférée à la lumière solaire; Les tubes fluorescents sont presque ; universellement utilisés, car ils sont les plus contrôlables, ne chauffent pas et certains peuvent avoir un spectre d'émission proche du spectre d'absorption des microalgues (*FIALA - 1978, LAING et Col 1981, ROBIN, 1981*). L'intensité lumineuse préférable pour l'ensemble des espèces cultivées est comprise entre :

- 4750 et 5250 lux (*LAING et Col 1979*)
- 3500 lux pour les travaux physiologiques et 1000 lux pour la conservation des souches (*FIALA - 1978*).
- 3000 et 5000 lux (*ROBIN - 1981*)
- 3500 et 5000 lux (*AUDINEAU, et COL, 1986*)

Pour obtenir une production maximale la lumière est fournie 24/24 heures (*AUDINEAU, et Col - 1986*).

#### 4.2.1.2 La température:

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

Pour assurer la régulation thermique de la salle de production d'algue, elle doit être pourvue d'une climatisation suffisamment puissante, pour maintenir une température comprise entre 18°C - et 22 °c, température moyenne qui satisfait les exigences des espèces cultivées (*LE BORGNE - 1986*).

#### 4.2.1.3 L'agitation :

La plupart des cultures ont tendance à sédimenter. Il est nécessaire de les agiter quotidiennement, manuellement en ce qui concerne les petits volumes jusqu'à 1 ou 2l, tandis que pour les volumes plus importants on utilise l'agitation par bullage d'air, qui a l'avantage d'apporter du gaz carbonique et stabiliser le pH (*MOYSE - 1956, HEMERICK - 1973, FIALA, 1978., LAING et Col - 1981*).

## 4.2.2 Conditions Chimiques :

### 4.2.2.1 Les sels nutritifs :

Les concentrations cellulaires des algues cultivées, sont généralement beaucoup plus élevées, que celles rencontrées dans le milieu naturel, il faut en contre parti leur fournir, des sels nutritifs car ceux qui sont présents dans l'eau ne suffisent plus, c'est ainsi qu'on ajoute.

- L'azote sous forme  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  ou  $\text{NNO}_3$  (DAUTA -1982)
- Le phosphate sous forme  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (FIALA - 1978)  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (MCLACHLAN - 1973),  $\text{P}_2\text{O}_5$  (BEKER et Col - 1976).
- La selice utilisée pour la culture des diatomées (ROBIN - 1981), sous forme de  $\text{Na SiO}_3$  (BERLAND - 1966).

### 4.2.2.2 Le gaz carbonique :

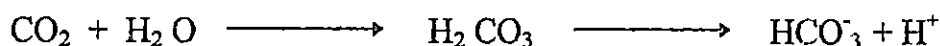
Les microalgues utilisent comme source de carbone le gaz carbonique sous forme de gaz libre, ou sous forme de bicarbonate, selon le pH du milieu (MANZEL et Col - 1973). L'apport de gaz est apporté par l'air de bullage AUDINEAU et Col - 1986, FERNANDEZ et Col -1989, BERNABE - 1991).

### 4.2.2.3 La salinité :

La plupart des microalgues marines poussent à des salinités inférieures à celle de l'eau de mer naturelle; 20 ‰ au lieu de 35 ‰, on peut alors effectuer des dilutions avec de l'eau douce (RAVAIL et Col - 1985, LE BORGNE- 1986, MCLACHLAN-1973).

### 4.2.2.4 Le pH

Avec le développement d'une culture d'algues, 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).

#### 4.2.3. Stérilisation :

D'après (LE BORGNE-1986). Il convient d'éliminer les organismes présents dans l'eau qui peuvent entrer en compétition avec les micro algues, il peut s'agir d'autres espèces de phytoplancton ou simplement des bactéries, la stérilisation par moyens physiques (Filtration, autoclave) ou par moyens chimiques (acidification, chloration) permet de résoudre le problème.

#### 4.3 Obtention des souches :

##### 4.3.1 Prélèvement et enrichement de l'eau naturelle :

Il consiste à prélever un échantillon d'eau naturelle, le filtrer pour éliminer le zooplancton, et le placer dans un milieu nutritif, pour permettre une augmentation de nombre des cellules d'après (FIALA, 1978).

##### 4.3.2 L'isolement des souches :

L'isolement des cellules permet d'obtenir des cultures monospécifiques il est conseillé d'utiliser les cultures en phase de croissance exponentielle (GUILLARD - 1973). Trois méthodes sont généralement utilisées:

###### 4.3.2.1 Isolement en milieu liquide:

A partir d'un échantillon observé au microscope on peut prélever une goutte du milieu contenant parmi, d'autres la cellule recherchée, répétant cette opération, plusieurs fois on arrive à isoler, une goutte unialgale, qui est mise en culture (BERLAND - 1966, LE BORGNE - 1986, ALLEN-1973)

###### 4.3.2.2 Isolement en milieu solide :

Cette technique est identique à celle employée en bactériologie. Les boîtes de pétri sont remplies en gélose enrichie en milieu de culture (ALLEN-1973, AUDINEAU-1986) ou Agar de 1 à 1,5% (FIALA - 1978) on étale sur la gélose à l'aide d'une anse de platine, une goutte contenant des cellules algales.

On peut également faire des repiquages successifs en choisissant parmi les colonies qui se développent celles qui correspondent à la micro algue recherchée (LE BORGNE - 1986).

### 4.3.3 Stérilisation des souches:

Pour obtenir une souche axénique: on utilise généralement 03 types d'antibiotiques qui permettent de couvrir tous le spectre bactérien.

- La pénicilline G agit sur les gram<sup>-</sup>
- La stréptomycine agit sur les gram<sup>+</sup>
- Le choramphénicol agit sur les deux

(GUILLARD - 1973, AUDINEAU et Col - 1986).

Pour les solutions préparé à partir de certains antibiotiques (voir Annexe), la technique consiste à transférer les algues plusieurs fois a un interval variant de un a trois jours dans un milieu de culture contenant un mélange de streptomycine de pénicilline (Spencer-1952, Soli-1963 in FIALA-1978).

### 4.4 Les types de cultures :

Pour les volumes dépassant 18 L, il y'a deux types de culture la différence réside dans la quantité à produire par jour (ROBIN - 1981)

#### 4.4.1 La culture en continu :

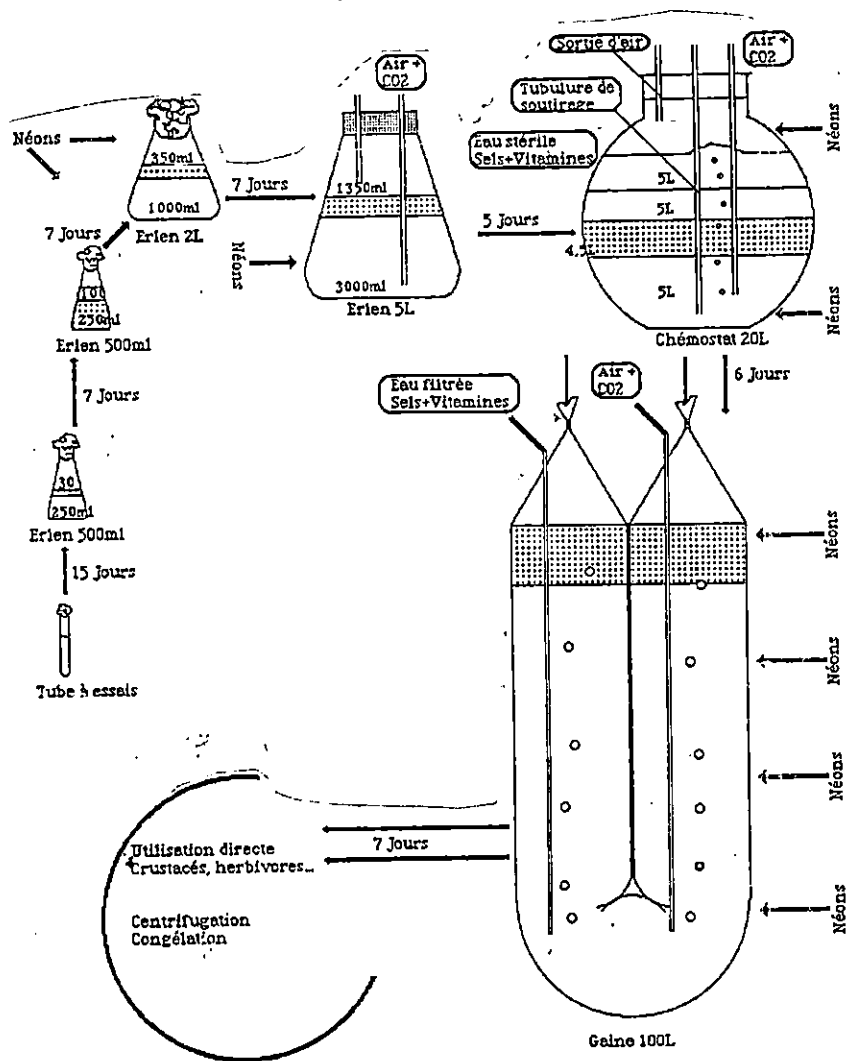
Ce type consiste à prélever une partie de la culture, et la remplacer par une quantité équivalente d'eau enrichie en élément nutritifs ce qui maintient un état d'équilibre. (BERNABE-1991). L'intérêt de la culture en continue est d'avoir à disposition :

- Des algues jeunes à fortes concentration, pour l'ensemencement
- Des volumes plus importants (AUDINEAU- 1986).

#### 4.4.2 La Culture successive :

Dans ce type de culture, la culture est entièrement prélevée à sa concentration maximale (ROBIN - 1981, HEMERICK - 1973). On peut par exemple suivre les étapes suivantes:

Tube à essai    →    Erlen 500 ml    →    Erlen 2 L    →    Erlen 5 L  
Chemostat 20 L    →    GAINÉ 100 L (Voir Figure N° 03)



**Figure N° 03: Représentation schématique du processus de production de microalgues. (BARNABE. 1991)**

#### 4.5 La croissance des Microalgues :

Les étapes de croissance d'une culture de microalgues sont identiques à celles des bactéries. On distingue quatre phases Figure N° 04 (*BERLAN - 1966, BEKER et Col, FERNANDEZ - REIRIZ et Col - 1989, BARNABE - 1991*)

##### 4.5.1 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*).

##### 4.5.2 Phase exponentielle :

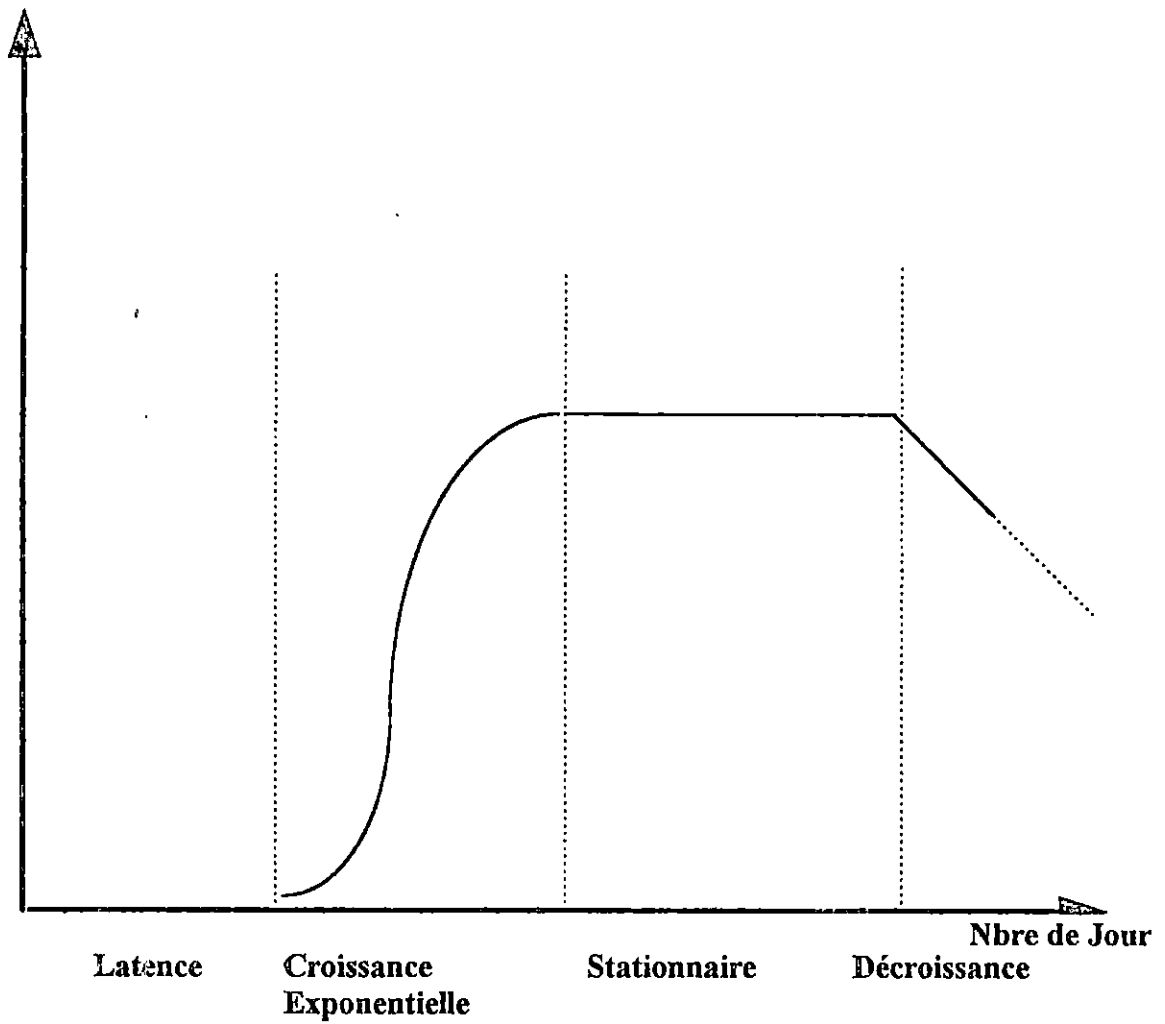
En cette phase, la croissance est la plus active où les cellules se divisent dans un temps caractéristique, appelé "Temps de division" (*FIALA - 1978*). Le développement de la population est exprimé par un taux de croissance de la forme:

Taux de croissance :

$$K_e = \frac{\ln(C_t) - \ln(C_0)}{t - t_0}$$

- Où : t = le temps en jour  
C<sub>t</sub> = Nombre de cellules (nbre cell /ml) au temps , t  
C<sub>0</sub> = Nombre de cellules en t<sub>0</sub>  
K<sub>e</sub> = La constante de croissance / jour  
(*BELKOURA et Col - 1992*).

$\text{Log}_2$  (Nbre de cellules/ ml)



**FIGURE 04 : DIFFERENTES ETAPES DE CROISSANCE DES MICRO-ALGUES (AUDINEAU et Col 1986)**

#### 4.5.3. Phase stationnaire :

Pendant cette phase la multiplication cellulaire est ralentie par un facteur limitant (Lumière, Nutriments, ...). Le nombre de cellules est constant, ces dernières constituent leur réserves intracellulaire (GREEN -1973, FERNANDEZ - REIRIZ et Col- 1989).

#### 4.5.4 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).

#### 4.6 Le contrôle de développement algal:

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

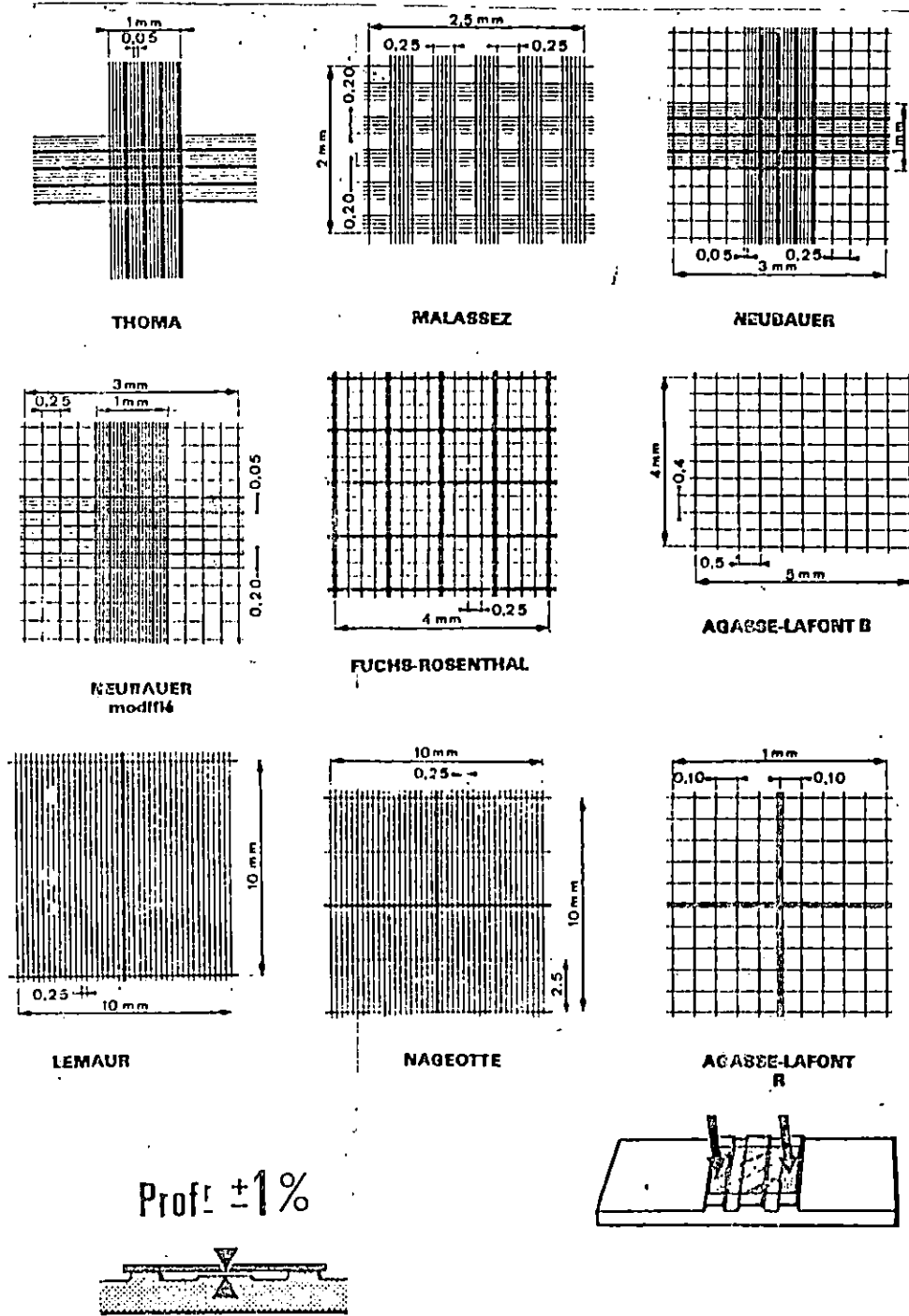
Les méthodes d'évaluation de croissance peuvent être regroupées :

- En méthodes directes : Comptages, poids sec, volume cellulaire
- En méthodes indirectes : Densité optique, pigments, protéines, ATP, Carbone, Azote, etc ...).

##### 4.6.1 Le comptage:

Le comptage s'effectue sous le microscope à l'aide d'une cellule de profondeur connue et dont le quadrillage défini donne un volume déterminé (Figure - 5 ).

Plusieurs types de cellules de comptage existent, chacune d'elles fournissant une précision optimale pour une taille de cellule et une concentration donnée (FIALA - 1978, AUDINEAU et Col - 1986). (Voir Tableau: 1)



**FIGURE - 5: Quadrillages de quelques Cellules de Numération (FIALA, 1978)**

Tableau 1 : Caractéristiques des principales cellules et chambres de comptage

Type de cellule	Dimensions du quadrillage (mm)	Volume (ml)
Thoma	1 x 1 x 0,1	$10^{-4}$
Agasse Lafont	1 x 1 x 0,1	$10^{-4}$
Neubauer et Neubauer modifiée	3 x 3 x 0,1	$9.10^{-4}$
Mallassez	2,5 x 2 x 0,2	$10^{-3}$
Fuchs Rosenthal	4 x 4 x 0,2	$32.10^{-4}$
Agasse Lafont B	5 x 4 x 0,5	$10^{-2}$
Lemann	10 x 10 x 0,4	$4.10^{-2}$
Nageotte	10 x 10 x 0,5	$5.10^{-2}$
Chambres		
Palmer Maloney	$\phi 17,9 \times 0,4$	$10^{-1}$
Sedgwich Rafter	50 x 20 x 1	1

#### 4.6.2 La densité optique:

La densité des cellules dans les cultures est estimée par une mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 678 nm (*GUERRI et Col-1981*), avec un établissement d'une correspondance entre la densité optique et la concentration cellulaires (*SOROKIN - 1973*).

#### 4.6.3 Le volume cellulaire :

La méthode consiste à mesurer le volume du concentrat, de la culture centrifugée, qui correspond à une concentration de culture (*BARNABE et Col- 1984*).

#### 4.6.4 La mesure de poids sec :

Après la centrifugation d'un volume assez important on peut sécher l'échantillon au four (*LE BORGNE-1986*), puis estimer le poids sec de l'échantillon. (*SOROKIN - 1973*). C'est une mesure précise pour comparer plusieurs cultures entre elles, mais le processus est long et ne permet un diagnostic rapide (*LE BORGNE - 1986*).

#### 4.7 La récolte des microalgues :

Dans la plupart, des cas il n'est pas nécessaire de séparer les microalgues du milieu liquide qui les entoure lors de leur utilisation. Quand les volumes atteignent des dizaines de litres, il devient plus pratique de les distribuer par pompage ce qui ne semble pas altérer la culture (*FLASCH et Col -1973 , LE BORGNE - 1986*).

Des méthodes de conservations sont utilisées pour tirer partie de la production saisonnière: Centrifugation, puis congélation ou lyophilisation (*AUDINEAU et Col-1986*). Mais les cellules sont souvent altérées, et peuvent, par leur décomposition et la prolifération bactérienne qui en résulte menacer la santé de l'élevage auquel; Elles sont distribuées (*LE BORGNE - 1986*).

### 5 - Les algues fourrages utilisées en aquaculture:

#### 5.1 Principales algues :

Les algues les plus utilisées en aquaculture sont, D'après *FANCIULLI (1987)*.

Les diatomées :

- *Phaedactylum tricornutum*
- *Skeletonema costatum*
- *Syclotella nana*
- *Chaetoceros calcitrans*

Qui sont généralement utilisées dans l'élevage larvaire des péneïdés .

Les haptophycées :

- Isochrysis galbana
- Pavlora lutheri

Utilisées dans l'élevage des mollusques bivalves, leur contenu est élevé en acides gras insaturés à longue chaîne.

Parasinophycées :

- Tetraselmis suecica

Chlorophycées :

- Dunaliella
- Chlorella
- Nannochloris

Utilisées comme aliment pour les rotifères (voir tableau 2.)

**Tableau 2 :** Caractéristiques et utilisations des Microalgues en aquaculture (d'après Maîtres ALAIN, Comm. Pers., BARNABE-1991)

Espèces	T° optimale	S%	Conc en mg/l	Espace nourrie
<i>Algues unicellulaires vertes</i>				
<i>Tetraselmis suecica</i>	<22	25	2-5	B.R.A.P.
<i>Dunaliella tertiolecta</i>				C
<i>Dunaliella salina</i>				C
<i>Chlorella</i>	< 28		50	Val. Faible
<i>Nannochloris</i>	<28	5-3	50	R
<i>Algues unicellulaires brunes</i>				
<i>Isochrysis galbana</i>	16-20		5-15	B
<i>Monochrysis</i>				
<i>Lutheri</i>	16-20		10-20	B
<i>Pseudoisochrysis</i>	16-20		Idem	C-Pe
<i>Diatomées unicellulaires</i>				
<i>Phaedactylum</i>				
<i>Tricornutum</i>	18-26			B-Pe
<i>Diatomées en chaînes</i>				
<i>Skeletona</i>				
<i>Costatum</i>				B-C
<i>Chaetoceros calcitrans</i> (Rendues unicellulaires par ultrasons)	16	20-30		B-H

A : Artémia

C : Huitre creuse

Pe : Crevettes pénaeïdes

P : Palourdes.

B : Bivalves (larve + naussains)

H : Huitre toutes espèces

R : Rotifères

## 5.2 Critères de choix :

Les espèces des microalgues cultivées sont sélectionnées selon les critères suivants:

- ♦ La facilité de culture
- ♦ Valeur alimentaire
- ♦ La taille cellulaire
- ♦ La composition biochimique.
- ♦ Digestibilité .

## 5.3 Valeur alimentaire :

Les microalgues possèdent des caractéristiques biochimiques et nutritionnelles en protéines très importantes, Cinq fois celles des algues macroscopiques (ROBIN - 1981). Elles présentent en outre des teneurs relativement fortes d'acides gras insaturés essentiellement pour l'alimentation des animaux marins (Tableau-3), (FERNANDEZ REIREZ - 1989).

**Tableau 3 :** Composition biochimique, exprimées en pourcentages (%) de poids sec de 7 espèces de microalgues (FERNANDEZ - REIREZ et Col - 1989).

Espèces	% protéines	% lipide	% Carbo-Hydrates	ARN
<i>Pavlova Lutheri</i>	33,55	28,88	18,53	0,95
<i>Isochrysis galbana</i>	39,97	28,60	15,21	1,17
<i>Hétérosigma Arashiwo</i>	27,27	49,96	16,55	0,44
<i>Tetraselmis Suecica</i>	40,85	24,40	12,30	1,29
<i>Rhodomonas</i>	16,75	27,86	12,60	0,52
<i>Phaeodactylum Ericornutum</i>	2,58	0	0,72	0,10
<i>Chaetoceros Calcitrans</i>	2,60	11,76	2,42	0,07

*MATERIELS  
ET  
METHODES*

# **1 - ETUDE DE LA CROISSANCE DE DEUX ESPECES DE MICROALGUES DANS DEUX MILIEUX DE CULTURE DIFFERENTS**

## **I.1 But :**

Le but de cet étude, est de connaître le quel des deux milieux (Provasoli, Agrispon) est le plus favorable pour le développement de *Chlorella sp.*, et *Tetraselmis suecica*.

## **I.2 Matériels**

### **1.2.1 Matériel biologique**

Les algues cultivées sont :

*Algue d' eau douce* : *Chlorella sp*

*Algue marine* : *Tetraselmis suecica*

Le choix de ces deux espèces est basé sur leur facilité de culture et leur vaste utilisation en aquaculture. Les souches nous ont été fournies par, l'Algothèque de la station marine d' *ENDOME*, Marseille

### **1.2.2 Equipement**

- 2 Erlenmyer de 500 cc
- 4 Ballons de 3000cc
- Pipettes graduées ,20ml ,1ml
- Pipettes pasteurs
- Microscope optique (Type, ZEISS)
- Cellule de Nageotte
- Pissette
- Coton cardés
- Filtre 30  $\mu$ m
- Une armoire vitrée avec une armature en inox

### 1.2.3 Milieux de culture

#### 1.2.3.1 Milieux de Provasoli (ES.1968)

Selon (McLACHLAN -1973). Le milieu de Provasoli (1968) se compose des éléments suivant :

Pour 1 Litre il faut :

Na NO <sub>3</sub>	56,10 mg/l
Na <sub>2</sub> -glycerophosphate	07,65 mg/l
Fe-EDTA	02,50 mg/l
Cyanocobalamine (B <sub>12</sub> )	01,60 µg/l
Biotine	00,80 µg/l
Thiamine-HCL	20,00 µg/l
Tris	20,00 mg/l
Zinc	15,90 mg/l
Mn	02,60 mg/l
EDTA	02,68 mg/l
Bore	18,27 mg/l

#### 1.2.3.2 Agrispon :

##### 1.2.3.2.1 Définition

Agrispon est un fertilisant biologique, utilisé en agriculture, qui joue un rôle de stimulateur métabolique .

##### 1.2.3.2.2 Composition

Agrispon est composé de trois constituants :

- a - Eléments minéraux
- b - Eléments organiques
- c - Eau

**A. Eléments minéraux :**

Agrispon contient environ 800 mg/l de solides dissous.

Le tableau suivant résume la concentration de chaque élément en mg/l

**Tableau 4 : Concentration des différents éléments minéraux contenu dans Agrispon.**

Elements		Concent	Element		Concent	Elements		Concentration
Potassium	K	2200	Chloride	O	700	Silice	SiO <sup>2</sup>	72
Sodium	Na	209	Nitrate	No3	700	Fer	Fe	23
Bore	B	60	Sulfate	SO4	110	Calcium	Ca	4
Magresium	Mg	7,6	Aluminium	Al	26	Selenium	Se	0,295
Cuivre	Cu	2,8	Phosphore	P	5	Antimoine	Sb	0,036
Nickel	Ni	0,288	Manganèse	Mn	0,4	Zinc	Zn	0,0120
Chrome	Cr	0,0204	Cobalt	Co	0,057	Molybdène	Mo	Traces
Argent	Ag	0,005	Baryum	Ba	0,0200			

**B - Eléments organiques :**

Agrispon contient environ 130mg/l de matières organiques, essentiellement :

- Acides nucléiques (ADN, ARN).
- Régulateurs de croissance
- Glucosides
- Porphyrines
- Morphogènes
- Et Vitamines

En ce qui concerne le mode d'utilisation (Voir Annexe) .

### 1.3 Méthodes :

#### 1.3.1 La filtration

La filtration de l'eau permet la rétention des débris particulaires, notamment, le zooplancton et le phytoplancton. (MCLACHLAN - 1973). Elle était réalisée à l'aide d'une pompe à vide, et un filtre de 30 µm.

#### 1.3.2 La stérilisation

La stérilisation de l'armoire de culture a été effectuée régulièrement par un nettoyage à l'hypochlorite de sodium. (Eau de javel). Avant chaque utilisation il a été procédé à la stérilisation des verreries; par une solution sulfochronique pendant 24 heures, puis rincées, abondamment à l'eau courante et en suite à l'eau distillée, puis elles ont été mises à l'étuve pendant 2 heures à 120°C. La stérilisation de l'eau filtrés a été effectuée, par autoclavage pendant 30mn, dérivant de la méthode d'AUDINEAU, et Col (1986).

#### 1.3.3 Préparation de milieu de culture

##### 1.3.3.1 Milieus de Provasoli

Les pesées des produits ont été effectuées par une micro-balance de type « GOTTINGEN L 220 S ».

Huit solutions mères à base d'eau distillée, ont été préparés.

Dans le tableau suivant on a résumé, la concentration de chaque élément, dans la solution mère, et le volume à prélevé pour préparer un litre de milieu de culture.

**Tableau 5 :** *La concentration de chaque élément dans la solution mère et le volume à prélever pour préparer un litre de milieu de Provasoli*

Elements		Concentration dans la solution	Volume de la solution mère ml	Volume à prélever (ml)
Na NO <sub>3</sub>		5,61 g	500	5
Na <sub>2</sub> -glycero phosphate		765 mg	500	5
Cyano-cobalamine B <sub>12</sub>		1 mg	500	0,8
Thiamine - HCl		500 mg	500	8
Biotine		500 mg	500	0,5
Tris		20 mg	500	50
EDTA		268 mg	100	1
Solution des Traces des métaux	ZnCl <sub>2</sub>	15,9 mg	500	0,5
	MnCl <sub>2</sub>	0,5 µg		
	Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	85mg		
	FeCl <sub>3</sub>	1mg		
	Acie Borique	9,13 g		

### 1.3 Méthodes :

#### 1.3.1 La filtration

La filtration de l'eau permet la rétention des débris particuliers, notamment, le zooplancton et le phytoplancton. (MCLACHLAN - 1973). Elle était réalisée à l'aide d'une pompe à vide, et un filtre de 30 µm.

#### 1.3.2 La stérilisation

La stérilisation de l'armoire de culture a été effectuée régulièrement par un nettoyage à l'hypochlorite de sodium. (Eau de javel). Avant chaque utilisation il a été procédé à la stérilisation des verreries; par une solution sulfochromique pendant 24 heures, puis rincées, abondamment à l'eau courante et en suite à l'eau distillée, puis elles ont été mises à l'étuve pendant 2 heures à 120°C. La stérilisation de l'eau filtrés a été effectuée, par autoclavage pendant 30mn, dérivant de la méthode d'AUDINEAU, et Col (1986).

#### 1.3.3 Préparation de milieu de culture

##### 1.3.3.1 Milieux de Provasoli

Les pesées des produits ont été effectuées par une micro-balance de type « GOTTINGEN L 220 S ».

Huit solutions mères à base d'eau distillée, ont été préparés.

Dans le tableau suivant on a résumé, la concentration de chaque élément, dans la solution mère, et le volume à prélever pour préparer un litre de milieu de culture.

**Tableau 5 :** *La concentration de chaque élément dans la solution mère et le volume à prélever pour préparer un litre de milieu de Provasoli*

Elements		Concentration dans la solution	Volume de la solution mère ml	Volume à prélever (ml)
Na NO <sub>3</sub>		5,61 g	500	5
Na <sub>2</sub> -glycero phosphate		765 mg	500	5
Cyano-cobalamine B <sub>12</sub>		1 mg	500	0,8
Thiamine - HCl		500 mg	500	8
Biotine		500 mg	500	0,5
Tris		20 mg	500	50
EDTA		268 mg	100	1
Solution des Traces des métaux	ZnCl <sub>2</sub>	15,9 mg	500	0,5
	MnCl <sub>2</sub>	0,5 µg		
	Co (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	85mg		
	FeCl <sub>3</sub>	1mg		
	Acie Borique	9,13 g		

Les volumes à prélevés ont été utilisés pour enrichir, un litre d'eau de mer sterile, pour la culture de *Tetraselmis suecica*, et un litre d'eau douce pour *Chlorella sp.*

### 1.3.3.2 Agrispon :

Pour l'utilisation d'Agrispon, les conditions d'application, citées dans le rapport Agri-tec ont été respectées.

- Le flacon a été très fortement agité, pour réactiver le produit.
- La dilution était de 300L pour 1L d'Agrispon, c'est à dire 0.3%.
- L'utilisation a été effectuée dans les six heures qui suivaient sa dilution dans l'eau.

### 1.3.4 Paramètres physico-chimiques :

La température de l'armoire a été autour de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ .

- L'eau de mer a été diluée avec de l'eau distillée pour ramener la salinité de 35‰ à 25‰ [seuil optimal pour *Tetraselmis suecica* d'après *BARNABE - (1991)*].
- Les cultures ont été soumises à un éclairage artificielle d'une intensité lumineuse de 4000 lux.
- Le pH de la culture a été stabilisé par un apport d'air de 3L / min, par une pompe à air.

### 1.3.5 La culture :

Le déroulement de la culture dérive de la méthode de (*HELM et Col - 1979*) et (*FERNANDEZ et Col-1989*). Les souches ont été maintenues dans des culture stagnantes et sans apport d'air.

Quatre ballons de 3000 cc ont été préparés. Deux ballons ont été remplis par 2L d'eau de mer enrichi, l'un par le milieu de Provasoli et l'autre par Agrispon; puis inoculés par 10 ml de *Tetraselmis Suecica*.

Les deux autres ballons ont été remplis par deux litres d'eau douce enrichi, l'un par le milieu de Provasoli et l'autre par Agrispon, puis inoculés par 10 ml de *Chlorella sp.*

L'ensemencement a été effectué dans un rayon de 20 cm, autour d'une flamme d'un bec bensen. Les ballons ont été étiquetés, fermés par le coton cardés puis placés dans l'armoire devant la source lumineuse. (voir figure 11, Annexe)

### 1.3.6 Le Comptage :

L'estimation des concentrations cellulaires a été effectuée par comptage sur la cellule de Nageotte et sous un microscope.

Le comptage a été effectué chaque jour. La fixation de *Tetraselmis suecica* a été effectuée par le lugol.

Le comptage a été réalisé d'après la méthode *d'AUDINEAU et Col (1986)* qui consiste à :

- Disposer la lamelle sur la cellule après avoir humidifié les zones de support avec de la salive pour assurer une bonne adhérence de celle-ci.
- Les micro-algues sont prélevés, après homogénéisation, avec une pipette pasteur et introduite sur la zone de comptage entre lame et lamelle.

## 1.4 Résultats :

### 1.4.1 Résultats de suivi de la croissance :

Les résultats du suivi de la croissance de *Chlorella sp.* Et *Tetraselmis suecica* dans les deux milieux, sont représentés, par ordre, par le graphe 6, Tableau 6,7 et graphe (7), Tableau (8,9).

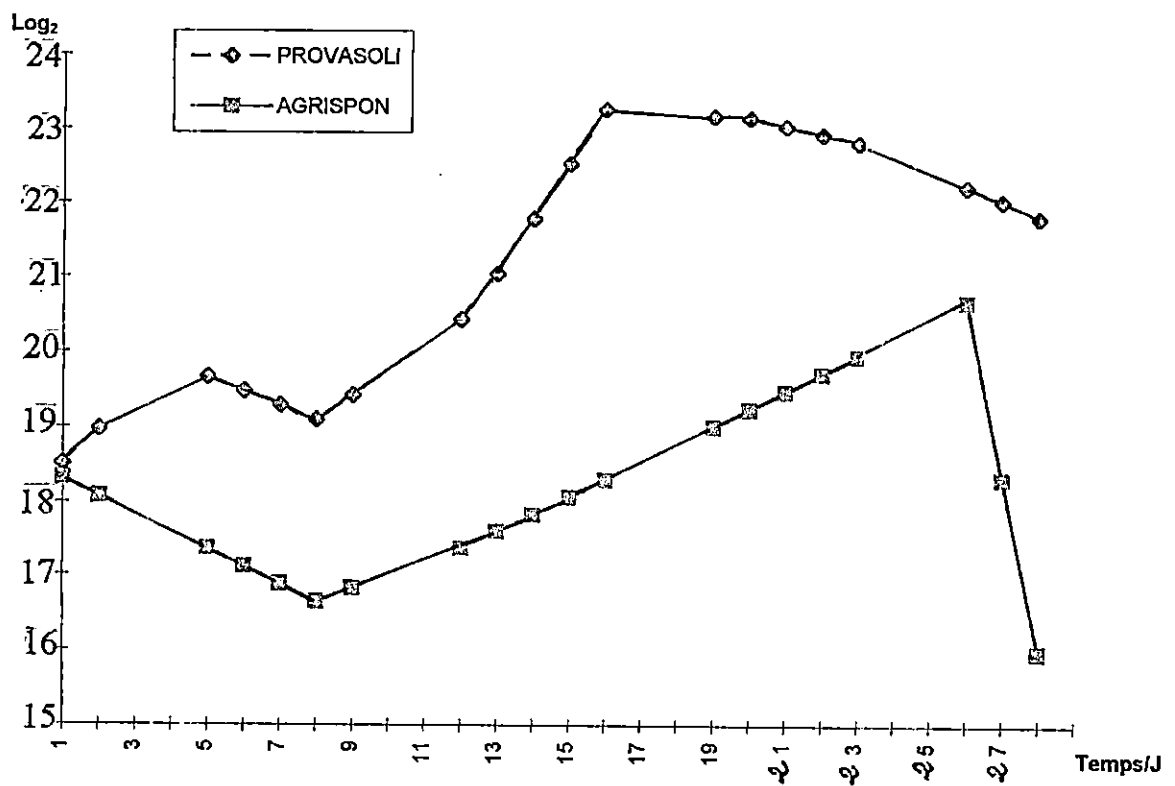


Figure N° 6 : Variation de concentration de *Chlorella sp.*, dans les deux milieux exprimée en  $\log_2$  (cell/ml)

**Tableau 6 :** Les variations de la concentration cellulaire de *Chlorella sp* exprimées en nombre de cell/ml, ou  $\log_2$  (Nbre de cell/ml) en fonction du temps dans les deux milieux.

Milieu Jour	PROVASOLI		AGRISPON	
	Nbre de cell/ml.10 <sup>3</sup>	Log <sub>2</sub> (nbre cell/ml)	nbre de cell/ml .10 <sup>3</sup>	log <sub>2</sub> (nbre de cell/ml)
11/06/96	379	18.52	330	18.32
12/06/96	514	18.98	279	18.08
15/06/96	847	19.68	169	17.36
16/06/96	742	19.49	143	17.12
17/06/96	650	19.30	121	16.38
18/06/96	571	19.11	116	16.82
19/06/96	716	19.44	171	17.37
22/06/96	1434	20.44	200	17.60
23/06/96	2190	21.05	234	17.83
24/06/96	3658	21.79	277	18.07
25/06/96	6111	22.53	328	18.31
26/06/96	10211	23.27	535	19.02
29/06/96	9592	23.18	628	19.25
30/06/96	9461	23.16	683	19.37
01/07/96	8704	23.04	742	19.49
02/07/96	8069	22.93	876	19.73
03/07/96	7473	22.82	1028	19.96
06/07/96	4930	22.22	1695	20.68
07/07/96	8065	22.03	311	18.33
08/07/96	3709	21.81	65	15.98

**Tableau 7 :** Résultats des taux de croissance de *Chlorella sp* dans les deux milieux de culture et dans les conditions expérimentales.

Milieu de culture	Luminosité (lux)	Température °c	Concentration maximale cell/ml.10 <sup>3</sup>	Temps (j)	Taux de croissance j <sup>-1</sup>
Provasoli	4000	26 ± 2	10211	15	0.219
Agrispon	4000	26 ± 2	1695	25	0.065

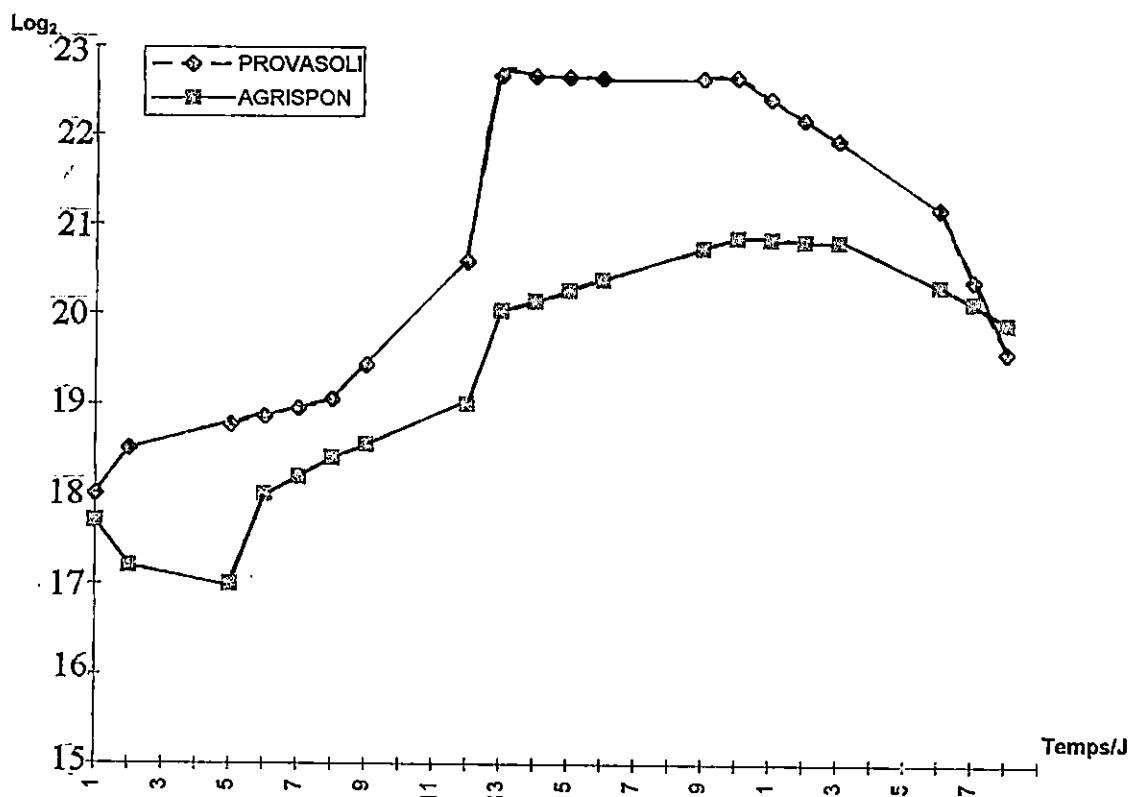


Figure N° 07 : Variation de concentration de *Tetraselmis. suecica* dans les deux milieux exprimée en  $\log_2$  (cell/ml)

**Tableau 8 :** Les variations de la concentration cellulaire de *Tetraselmis suecica*, exprimées en nbre de cell/ml, et log 2 (Nbre de cell/ml) en fonction de temps dans les deux milieux.

Milieu	Jour	PROVASOLI		AGRISPON	
		Nbre de cell/ml.10 <sup>3</sup>	Log <sub>2</sub> (nbre cell/ml)	nbre de cell/ml.10 <sup>3</sup>	log <sub>2</sub> (nbre de cell/ml)
	11/06/96	266	18.01	215	17.70
	12/06/96	376	18.51	152	17.20
	15/06/96	453	18.78	229	17.80
	16/06/96	482	18.87	264	18.00
	17/06/96	513	18.96	303	18.20
	18/06/96	550	19.06	350	18.41
	19/06/96	716	19.44	389	18.56
	22/06/96	1591	20.59	531	19.01
	23/06/96	6782	22.68	1086	20.04
	24/06/96	6734	22.67	1172	20.15
	25/06/96	6688	22.66	1274	20.27
	26/06/96	6642	22.65	1385	20.39
	29/06/96	6641	22.65	1765	20.74
	30/06/96	6680	22.66	1919	20.86
	01/07/96	5662	22.42	1892	20.87
	02/07/96	4794	22.18	1866	20.82
	03/07/96	4087	21.95	1853	20.81
	06/07/96	2396	21.18	1375	20.38
	07/07/96	1375	20.38	1164	20.14
	08/07/96	795	19.59	986	19.96

**Tableau 9 :** Résultat des taux de croissance de *Tetraselmis suecica*, dans les deux milieux et dans les conditions expérimentales.

Milieu de culture	Luminosité (lux)	Température °C	Concentration maximale cell/ml.10 <sup>3</sup>	Temps (j)	Taux de croissance (G <sup>-1</sup> )
Agripon	4000	26 ± 2	1919	19	0,113
Provasoli	4000	26 ± 2	6782	12	0,269

#### 1.4.2 Interprétation :

##### 1.4.2.1 CHLORELLA SP.

D'après le graphe (6), le développement de *Chlorella sp.* Dans le milieu de Provasoli, montre une phase de latence de 07 jours mentrant un faible développement passant de  $379.10^3$  cell/ml. à  $571.10^3$  cell/ml.

Une phase exponentielle de 08 jours, avec une concentration maximale de  $10211.10^3$  cell/ml et un taux de croissance de 0,219/j. Un stationnaire de 04 jour suivi d'une phase de declin lente

Le developpement de *Chlorella sp.* dans agrispon montre une phase de latence de 07 jours avec un declin passant de  $330.10^3$  cell/ml à  $10^3$  cell/ml. Puis une phase exponentielle longue de 18 jours, avec une concentration maximale de  $1695.10^3$  cell/ml avec un taux de croissance de 0,065/j, suivi d'une phase de declin rapide, avec l'absence de la phase stationnaire.

##### 1.4.2.2 Tetraselmis suecica

D'après le graphe (7), le developpement de *Tetraselmis suecica* dans le milieu de Provasoli montre une phase de latence de 08 jours avec un faible developpement passant de  $266.10^3$  cell/ml à  $551.10^3$  cell/ml.

Puis une phase exponentielle courte de 05 jours avec une concentration maximale de  $6782.10^3$  cell/ml de 12 jours et un taux de croissance de 0,269/j. Une phase stationnaire de 07 jours, bien marquée, puis une phase de declin lente.

Le developpement de *Tetraselmis suecica*, dans Agrispon montre une phase de latence de 02 jours avec un faible declin qui passe de  $215.10^3$  cell/ml à  $152.10^3$  cell/ml. Puis une phase exponentielle de croissance longue de 19 jours avec une concentration maximale de  $192.10^3$  cell/ml et un taux de croissance de 0,113/j. Une phase stationnaire courte de 03 jours, suivi d'une phase de declin lente.

#### 1.4.3 Discussion :

D'après les résultats obtenus, *Chlorella sp.* et *Tetraselmis. suecica* se développent mieux dans le milieu de *Provasoli*, présentant des concentrations maximales significatives , et des phases de croissance bien marquées, car le milieu de *Provasoli* est un milieu synthétique destiné pour la culture des micro-algues.

Par contre ces deux espèces présentent un faible développement dans Agrispon, caractérisé par l'absence de la phase stationnaire, et une phase exponentielle longue .

Ce mauvais développement est probablement due à la concentration élevée des composés organiques, qui ont un effet inhibiteur lorsqu'ils sont en grande quantité d'après KONONOVA (1966); WILKINS (1984); SYLTET (1985) (in Rapport Agri-tec)

Cette inhibition est due essentiellement à la présence en importante concentration du cytokinine et qui a été démontrée par Fisher (1986); et les glucosides prouvés par SALISBURY, and ROSS (1978) (in rapport Agri-tec ).

#### 1.4.4 Conclusion :

Le milieu de PROVASOLI est favorable pour le développement de *Chlorella sp* et *Tetraselmis suecica*

Quand à Agrispon le développement a été faible à une concentration de 0,93 % (1/300), par rapport au milieu de Provasoli.

Pour démontrer l'efficacité d'Agrispon il a été jugé utile de réaliser des expérimentations à différentes concentrations en procédant à des différentes dilutions.

## 2 - ETUDE DE LA CROISSANCE DE CHORELLA SP. ET TETRASELMIS SUECICA DANS DIFERENTES DILUTIONS D'AGRISPON

### 2.1 But :

Le but de cet étude est de déterminer la concentration optimale d'Agrispon, pour la croissance de *Chlorella sp.* et *Tetraselmis suecica*.

### 2.2 Matériel

- Dix (10) ballons de 3 000 cc
- Pipette graduée
- Microscope
- Cellules de Nageotte
- Pissette
- Coton cordé
- Armoire Vitrée avec armature en Inox.

### 2.3 Méthodes

#### 2.3.1 Préparation des dilutions

Dans le tableau suivant, on a résumé les différentes concentrations des dilutions, et les volumes à prélever pour enrichir 2 l d'eau ( douce, ou salée).

Tableau 10 : Les différentes dilution et les volumes à prélever pour enrichir 2 l d'eau (douce, ou salée)

Dillution	Pourcentage d'Agrispon (%)	Volume à prélever d'Agrispon (ml)
1/300	0,33	6.7
1/600	0,16	3.3
1/900	0,11	2.2
1/1200	0,08	1.6
1/1500	0,06	1.3

### 2.3.2 Paramètres physico chimiques :

- La température de l'armoire vitrée a été au tour de  $24 \pm 2$  °C ;
- L'eau de mer a été diluée avec de l'eau distillée pour ramener la salinité de 35 ‰ à 25 ‰ ;
- L'illumination a été de l'ordre de 4 000 lux ;
- Le pH de la culture a été stabilisé par un apport d'air.

### 2.3.3 La culture :

Dix (10) ballons de 3.000 cc ont été préparés;

Les cinq (05) premier ballons, chacun a été rempli par 2L d'eau de mer, puis enrichi par une dilution et enfin inoculé par 10 ml de *Tetraselmis suecica*.

Les cinq (05) autres ballons, ont été rempli chacun par 2 l d'eau douce, enrichis par une dilution , puis inoculé par 10 ml de *Chlorella sp.*

Les ballons ont été bouchés, par des cotons cardés, étiquetés, puis placés dans l'armoire vitrée pour la culture, devant la source lumineuse.

### 2.3.4 Le Comptage :

L'estimation des concentrations cellulaires, a été effectuée par comptage sur la cellule de Nageotte, sous le microscope.

## 2.4 Les résultats :

### 2.4.1 Résultats du suivi de la croissance :

- Les resultats du suivi de la croissance de *Chlorella sp* dans les cinq (05) dilutions d'Agrispon, sont représentés dans le graphe (08) et les tableau ; (11 - 12).
- Les resultats du suivi de la croissance de *Tetraselmis.suecica* sont représentés dans le graphe (09) et par les tableau (13-14).

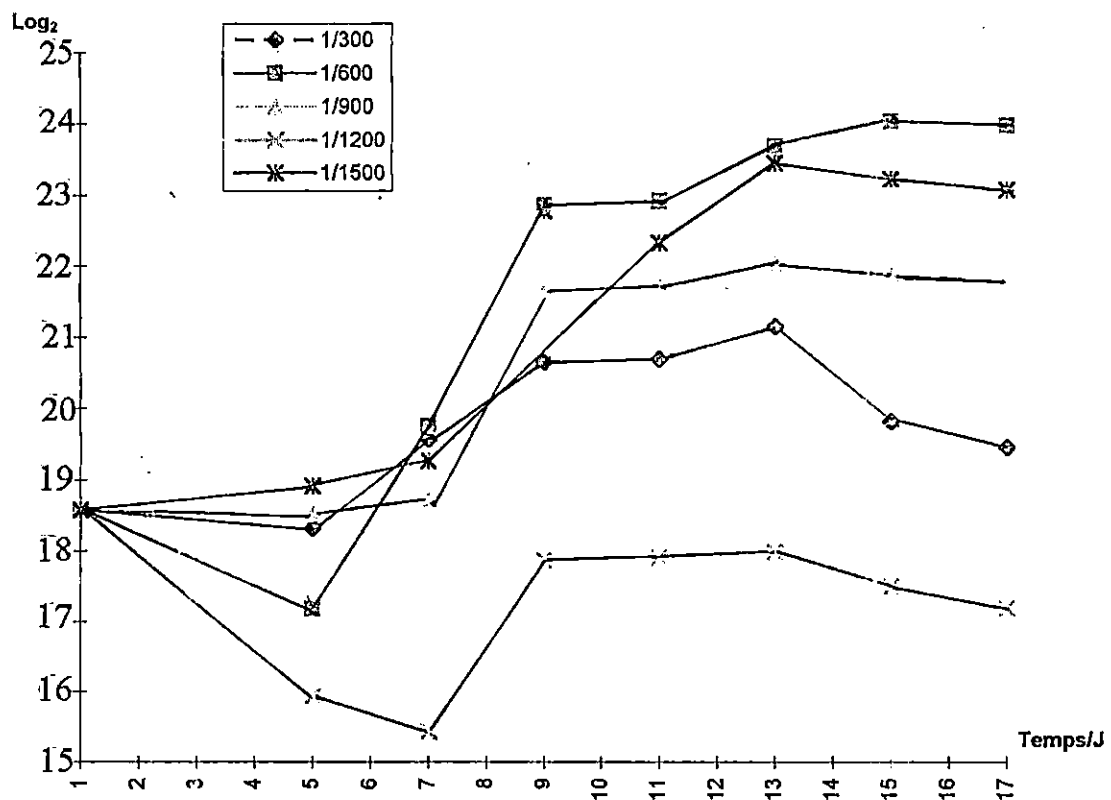


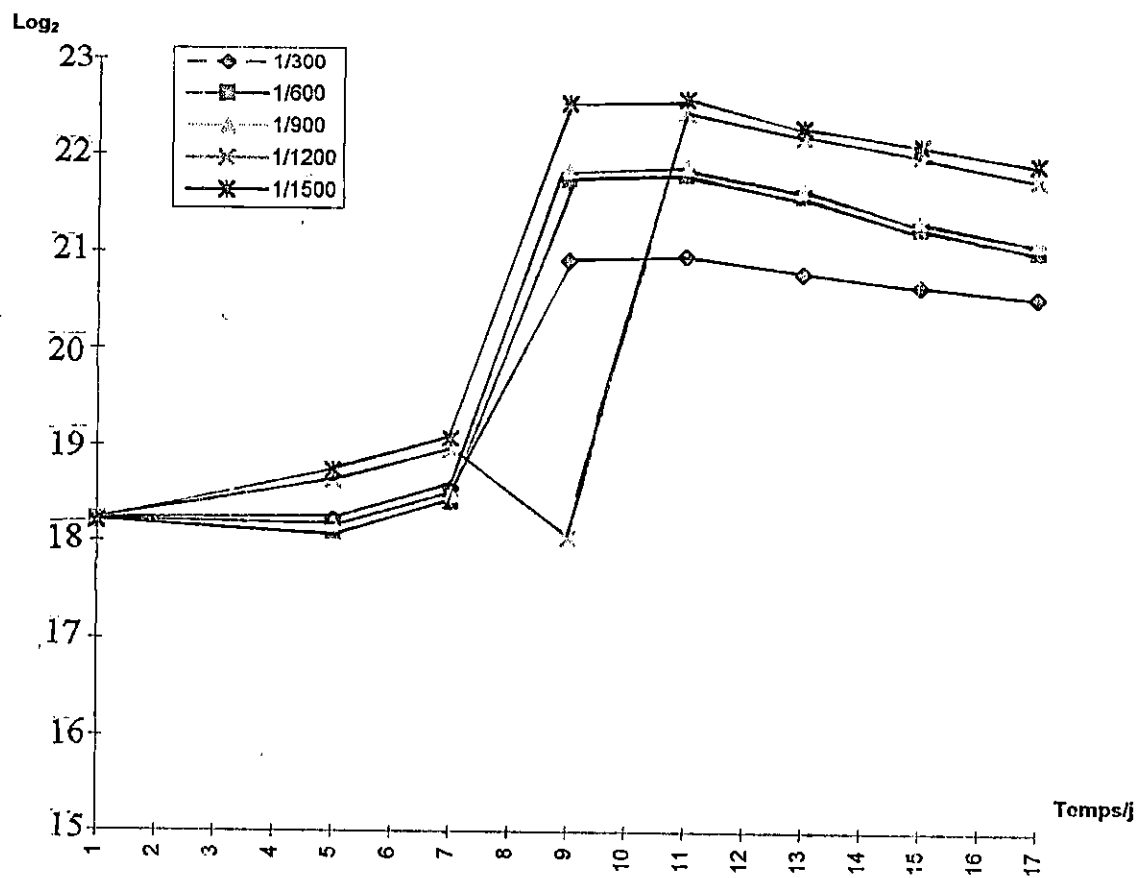
Figure N° 8 : Variation de concentration de Chlorella sp dans les 5 dilutions d'Agrispon exprimée en Log<sub>2</sub> (Nbre cell/ml),

**Tableau 11 :** *Variation de concentration de Chlorella sp. dans plusieurs dilution d'Agrispon*

Dilution Date	1/300		1/600		1/900		1/1200		1/1500	
	cell/ml x 10 <sup>3</sup>	Log 2 (cell/ml)	cell/ml x 10 <sup>3</sup>	Log 2 (cell/ml)	cell/ml x 10 <sup>3</sup>	Log 2 (cell/ml)	cell/ml x 10 <sup>3</sup>	Log 2 (cell/ml)	cell/ml x 10 <sup>3</sup>	Log 2 (cell/ml)
04.09.96	398	18.59	397	18.58	399	18.59	398	18.59	396	18.52
08.09.96	332	18.33	150	17.18	382	18.53	63	15.93	500	18.92
10.09.96	780	19.56	889	19.75	436	18.72	46	15.43	160	19.27
12.09.96	1648	20.64	763	22.85	3320	21.65	242	17.87	7219	22.77
14.09.96	1706	20.69	7955	22.91	3437	21.70	249	17.91	5284	22.32
16.09.96	2331	21.14	13569	23.68	4329	22.03	261	17.98	11488	23.44
18.09.96	921	19.80	17177	24.02	3841	21.86	187	17.50	9795	23.21
20.09.96	722	19.45	16477	23.96	3659	21.79	151	17.19	8827	23.06

**Tableau 12 :** *Résultats des taux de croissance de Chlorella sp. dans plusieurs dilutions d'Agrispon*

Dilution	luminescence	Salinité ‰	Concentration max (cell/ml)	Temps (j)	T °C	K <sub>σ-11</sub>
1/300	4000	/	2330611	12	26 ± 2	0.147
1/600	4000	/	17177436	14	26 ± 2	0.269
1/900	4000	/	4329795	12	26 ± 2	0.229
1/1200	4000	/	261039	12	26 ± 2	- 0.036
1/1500	4000	/	11487908	12	26 ± 2	0.262



**Figure N° 9 : Variation de concentration de Tetraselmis suecica dans les 5 dilutions d'agrispon exprimée en  $\text{Log}_2$  (nbre cell/ml).**

**Tableau 13 :** Variations de la concentration de *Tetraselmis suecica* dans les cinq dilutions d'Agrispon.

Dilution	1/300		1/600		1/900		1/1200		1/1500	
	cell/ml $\times 10^2$	Log 2 (cell/ml)	cell/ml $\times 10^3$	Log 2 (cell/ml)	cell/ml $\times 10^3$	Log 2 (cell/ml)	cell/ml $\times 10^3$	Log 2 (cell/ml)	cell/ml $\times 10^3$	Log 2 (cell/ml)
04.09.96	308	18.22	308	18.22	308	18.22	308	18.22	308	18.22
08.09.96	309	18.23	284	18.10	300	18.18	412	18.64	445	18.75
10.09.96	390	18.56	354	18.42	374	18.50	514	18.96	559	19.08
12.09.96	2015	20.93	3583	21.76	3814	21.85	272	18.04	6154	22.54
14.09.96	2086	20.98	3710	21.81	3949	21.90	5782	22.45	6372	22.59
16.09.96	1842	20.80	3207	21.60	3343	21.66	4862	22.20	5211	22.30
18.09.96	1683	20.67	2551	21.27	2715	21.36	4262	22.01	4599	22.12
20.09.96	1559	20.56	2175	21.04	2315	21.13	3608	21.77	4032	21.93

**Tableau 14 :** Résultats des taux de croissance de *Tetraselmis suecica* dans plusieurs dilution d'Agrispon

Dilution	lumunosité	Salinité ‰	Concentration max (cell/ml)	Temps (j)	T °C	$K_{(0-1)}$
1/300	4000	20	2086000	10	26 ± 2	0.178
1/600	4000	20	3709173	10	26 ± 2	0.248
1/900	4000	20	394905	10	26 ± 2	0.192
1/1200	4000	20	5781602	10	26 ± 2	0.293
1/1500	4000	20	6371135	10	26 ± 2	0.303

## 2.4.2 Interprétations :

### 2.4.2.1 Chlorella sp.

#### *Concentration 1/300*

On constate d'après le graphe (08), que le développement de *Chlorella sp* dans cette dilution, présente une phase de latence de cinq (05) jours, puis une phase exponentielle de huit (08) jours avec une concentration maximale de  $2331.10^3$  cel/ml et un taux de croissance de 0,147/j, suivi d'une phase de déclin lente, avec l'absence de la phase stationnaire.

#### ***Concentration 1/600***

Le développement dans cette dilution présente une phase de latence de cinq (05) jours, suivi d'une phase exponentielle de dix (10) jours, avec une concentration maximale  $17\text{-}177 \cdot 10^3$  cel/ ml, et un taux de croissance maximal de 0,269/j ; suivi d'une phase de déclin lente.

#### ***Concentration 1/900***

Après une phase de latence de sept (07) jours , on remarque une phase de six (06) jours avec une concentration maximale de  $4\text{-}321 \cdot 10^3$  cel / ml, et un taux de croissance de 0,229 /j suivi d'une phase de déclin très lente.

#### ***Concentration 1/1200***

Après une phase de latence de sept (07) jours on , constate une phase exponentielle de croissance de six (06) jours avec une concentration maximale de  $261 \cdot 10^3$  cel/ml , et un taux de 0,036 / j ; puis une phase de déclin lente.

#### ***Concentration 1/1500***

Après une phase de latence de onze (11) jours, on constate une phase exponentielle de deux (02) jours , avec une concentration maximale de  $11\text{-}488 \cdot 10^3$  cel/ml, et un taux de croissance de 0,262 /j ; suivi d'une phase de déclin très lente.

#### **2.4.2.2 *Tetraselmis Suecica***

D'après le graphe N° (09), le développement de *Tetra selmis suecica* dans les cinq (05) dilutions représentent une phase de latence de sept (07) jours, suivi d'une phase de croissance exponentielle de cinq (05) jours avec une concentration maximale de :

- $2\text{-}086 \cdot 10^3$  cell/ml, et un taux de croissance de 0,187/j pour la dilution 1/300.
  - $3\text{-}710 \cdot 10^3$  cell/ml , et un taux de 0,248 / j pour la dilution 1/ 600.
  - $39\text{-}49 \cdot 10^3$  cell/ml et un taux de 0,192/j pour la dilution de 1/900.
  - $57\text{-}82 \cdot 10^3$  cell/ml et un taux de 0,293/j pour la dilution de 1/1200.
  - $63\text{-}72 \cdot 10^3$  cell/ml et un taux de 0,303/j pour la dilution 1/1500.
- Suivi d'une phase de latence très lente.

#### **2. 4.3 *Discussion conclusion***

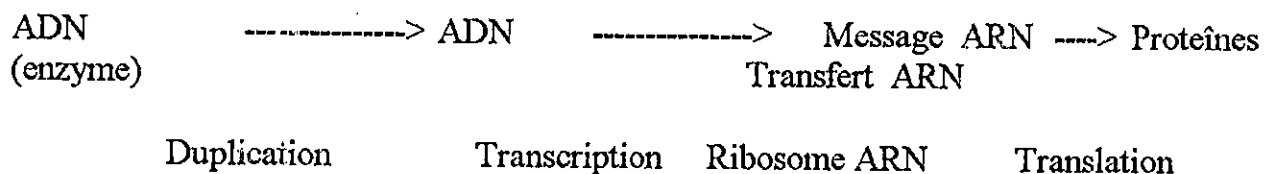
La dilution qui favorise un bon développement de *Chlorella sp.* est autour de 1/600 présentant une concentration maximale de  $17\text{-}177 \cdot 10^3$  cell/ml et un taux de croissance de 0,269/j. Supérieurs à ceux obtenus dans le milieu de Provasoli qui sont de  $10\text{-}211 \cdot 10^3$  cell/ml et 0,219/j.

Pour *Tetraselmis suecica*, la dilution favorable est autour de 1/1500, présentant une concentration maximale de  $6372.10^3$  cell/ml légèrement inférieur à celle obtenu dans le milieu de Provasoli qui est de  $6782.10^3$  cell/ml. Cependant le taux de croissance supérieur de 0,303 est supérieur à celui obtenu dans le milieu de Provasoli qui est de 0,269/j.

L'étude de comparative a montré qu'Agrispon est efficace à des concentration faible (1/1500) en eau marine par rapport à l'eau douce (1/600). Cela peut s'expliquer par la présence de sels contenus dans l'eau de mer.

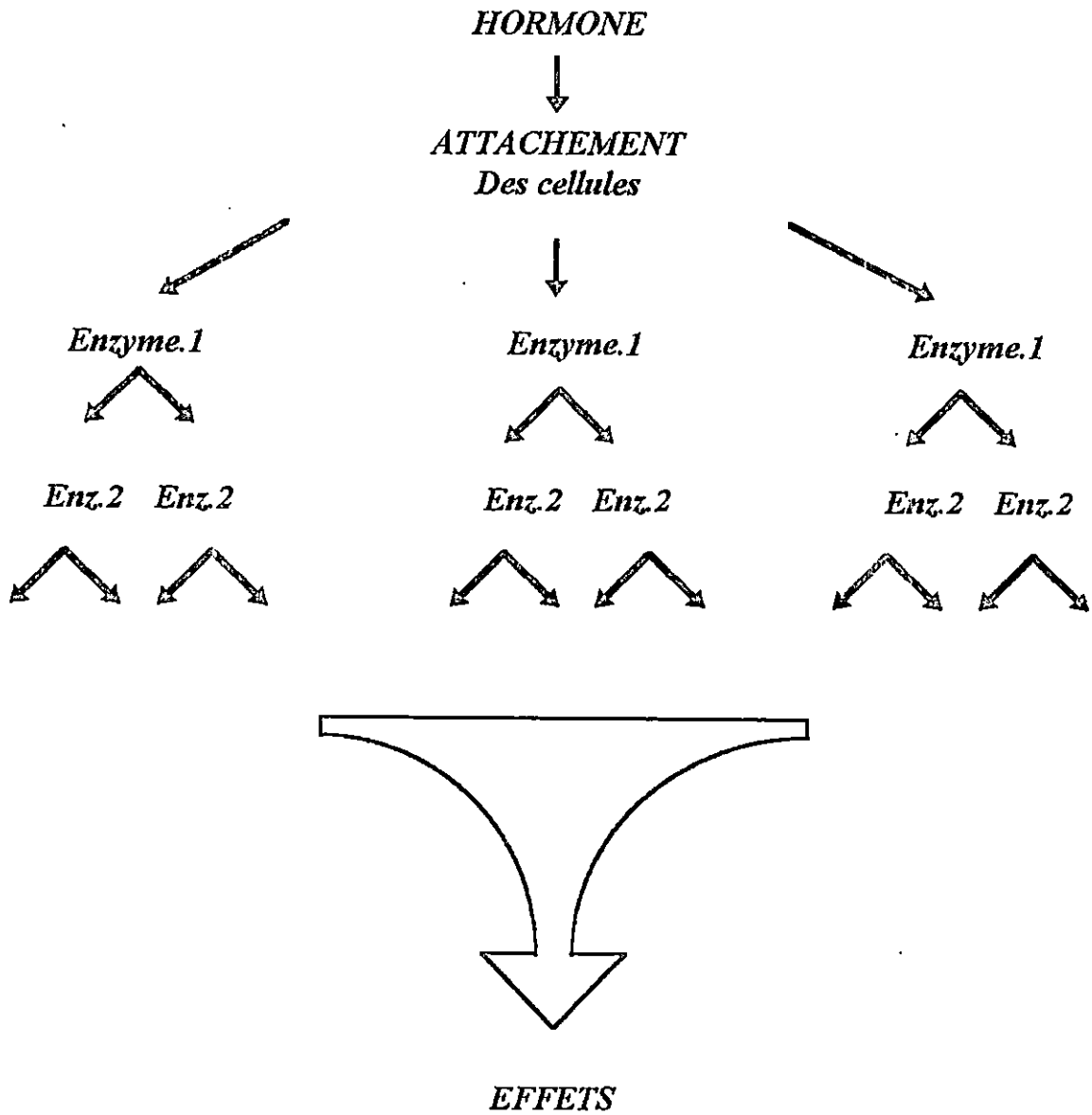
Ces deux importants, taux de croissance, 0,269, 0,303 sont dûes à l'effet catalytique et hormonale d'Agrispon par l'activation de l'ADN ou l'ARN des cellules.

L'activation des acides nucleique (AN), autrement dit, le processus de duplication, et translation et donc l'activité métabolique peut être constatée.



Les substances actives, dans l'Agrispon (Régulateur de croissance, porphyrine, glucosides), peuvent acitiver des parties spécifiques de l'ADN, empilées à l'intérieur du chromosome du noyau cellulaire, ou l'ARN afin d'induire les principales activités métabolique (*SYLTIE - 1985*). (in rapport Agri - tec)

Etant donné qu'Agrispon ne contient que de très faibles concentrations de composés possédant une activité catalytique et que seulement un l/ha soit appliqué il évident que ces composés doivent declencher leurs réponses à travers ce qui couramment appelé "*L'effet CASCADE*".



*PHYSIOLOGIQUE DANS LES CELLULES*

**Figure 10** : L'EFFET CASCADE (LEHNINGER. 1975)  
d'après le Rapport Agri-tec

## CONCLUSION GENERALE

L'élevages larvaires de nombreux animaux aquatiques nécessitent une production d'algues microscopiques, qui sont capables de fournir un aliment riche et sain, souvent irremplaçable. Cette production est techniquement moins maîtrisable elle est économiquement coûteuses.

Pour cela on a tenté de remplacer le milieu de culture par un fertilisant biologique agricole nommé Agrispon.

L'essai de culture réalisé nous a permet de maîtriser les différentes méthodes de cultures de préparation de milieu de culture, et de contrôle de développement algal.

En outre l'étude comparative qui a été réalisé nous permet de démontrer que le milieu de Provasoli donne des meilleurs résultats qu'Agrispon à une concentration de 0,33% (1 / 300).

Cependant après un autre test qu'a été réalisé avec des concentrations inférieures à 0,33%, 0,16% pour l'eau douce, et 0,06% pour l'eau de mer, ce dernier a donné de bon résultat.

Ce travail doit être compléter, par une analyse des constituants biochimiques des microalgues produites par Agrispon pour pouvoir dire qu'Agrispon est une solution d'avenir pour la production contrôlé en éclosérie ou non.

## REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- ALLEN, M.M., 1973. methods for cyanophyceae in Hand book of phycological methods : 127-138.
- AUDINEAU, P. et BLANCHETON, J.-1986. Production d'algues unicellulaires. IFREMER., Équipe MERE.A., Station: DEVA-SUD, p:1-19.
- BARNABE, G., 1991. Les cultures planctoniques, Bases biologiques et écologiques de l'aquaculture. p : 67-83
- BARNABE, G. et PERIGAULT, G., 1984. Collecte et utilisation du phytoplancton produit dans les étangs de lagunage de Mèze. Données préliminaires. Recherche biologique en aquaculture, CNEXO, 1: 161-175.
- BECKER, W.E et VENKATARAMAN, L. 1976. A manual on the cultivation and Processing of the green algae C.F.T.R.I., 20 p.
- BELKOURA, M. Et DAUTA, A., 1994. Caractéristiques photosynthétiques de *Chlorella sorokiniana* (Shihira & Krauss), en relation avec l'intensité lumineuse et la température corrélation avec le taux de croissance. Annls. Limnol. 30 (1) : 3-9
- BELKOURA, M. et DAUTA, A., 1992. Interaction lumière température et influence de la photopériode sur le taux de croissance de *Chlorella sorokiniana* (Shik, et Krauss). Annls. Limnol., 28 ( 2 ) : 101-107
- BERLAND, B., 1966. contribution à l'étude des cultures de diatomées marines. Recueil des travaux de la station marine d'ENDOUME, 40 (56): 316 p.
- BOUGIS, P.-1974. Ecologie du plancton marin.: I -Le phytoplancton : 196-p.
- BOURRELLY, P., 1979. Les cyanophycées, algues ou bactéries. Revue. Algologie. 14 (1) : 5 - 9.
- BOURRELLY, P., 1990. Les algues d'eau douce, initiation à la systématique, I- les algues vertes. 1 : 572 p.

- DABADIE, L., 1994. Résultats et connaissances acquises grâce à des cultures intensives des microalgues sur lisier de porcherie. *Annls. Limnol* 30 (3): 233 - 245.
- DAUTA, A., 1982, Conditions de développement du phytoplancton, étude comparative du comportement de huit espèces en culture. I. Détermination des paramètres de croissance en fonction de la lumière et de la température. *Annls. Limnol* 18 (03): 217-262.
- DAUTA. A., 1982 Condition de développement du phytoplancton étude comparative du comportement de huit espèces en culture, II. Rôle des nutriments: Assimilation et stockage intracellulaire. *Annls. Limnol.* 18 (3) : 263-292.
- DE LA NOUE. J., VAN COLLIE, R., BRUNEL, L., et POULIOT, Y., 1989, Traitement des eaux usées par cultures de microalgues. Influence de la composition du milieu sur la croissance de *Scenedesmus sp.* *Annls Limnol* : 25 (3) : 197-203.
- DE TASSIGNY. M, 1968: Les algues d'eau douce. *La Pisciculture Française, Aquariophilie* . 13 : 3-11.
- FERNANDEZ - REIRIZ, M.J., PEREZ-CAMACHO, A. FERREIRO, M.J., BLANCO, J., PLANAS, M., CAMPOS, M.J et LABARTA, U. (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: 17-37.
- FIALA. M. 1978 . Culture d'algues in JACQUES. G *Phytoplancton; biomasse, production, numération et culture* : 77-85.
- FLASSCH. J.P. et ROMAN. Y, 1973. Mise en place d'une unité de production d'algues, *Colloque I.C.E.S de Vigo* : 25-32.
- FLASSCH. J.P., AVELINE, C., 1984 : La production de jeunes ormeaux, *CNEXO Rapp. scien, Tech*, 50 : 68 p.

- FANCIULLI. G. 1987, production contrôlée en éclosérie de phyto et de zooplancton: Rapport MEDRAP : 109 - 124.
- GAYRAL.P, 1975; Les algues morphologie, cytologie reproduction, écologie, DOIN éditeur : 165 p.
- GREEN. P. B., 1973. Intracellular growth rates. In hand book of phycollogical méthodes : 369 - 375.
- GUERRI. M., BRUNEL; L. DAUTA. A., 1981. Interaction de la lumière et de la température sur le taux de la croissance de *Scenedesmus Crassus* Annuls. Limnol 17 (2) P : 97-104.
- GUERIN-ANCE Y.O, MAESTRINI. S.Y., BEKER.L:1978 Utilisation d'engrais agricoles comme source de nutrilités pour la culture massives de quelques algues marines, Publ. Sci. Tech. CNEXO; actes Colloq., N°7 - p : 285-304.
- GUILLARD, R. R.L., 1973, methods for microflagellates and nanoplankton : in Hand book of phycollogical méthodes; 69 - 86 .
- HARRIS. G.P., 1978- Photosynthesis, productivity and Growth : the physiological écology of phytoplankton. Erybnisse der Limnologie. 10 : 1- 163.
- HELM, M.M., LAING, I., et JONES, E., 1979 - The developement of a 200 L algal culture vessel at conwy. Fish. Res. Techn. Rep., 53; 1-12.
- HEMERICK. G., 1973. Mass culture. in hand book of phycollogical méthodes : 255 - 266.
- JACQUES, G., 1975, Production photosynthétique du milieu pélagique, perspectives, d'amélioration, oceanus. 2 (2) :
- LEBORGNE, A. et PAULMIER, G., 1974. le milieu naturel et ces variations. le milieu biologique. La conchyliculture française. ISTPM 1: 69 - 71.
- LEBORGNE, Y., 1986, La culture des microalgues in , BARNABE, G. Aquaculture 1: 181 - 192 .

- LAING, I et HELM, M. M., 1981. Factors affecting the semi - continuous production of *Tetraselmis suecica*: (kylin) BUTCH. In 200 L vessels. Aquaculture 22: 131 - 148.
- MENZEL D.W. et Dunston, W.M., 1973 Groth measurement by analysis of carbon, in Hand book of pycological methods : 313 - 320.
- MCLACHLAN, J., 1973. Growth media marine, in Hand book of pycological methods : 25 - 51.
- MOYSE, A., 1956. Les bases scientifiques des perspectives nouvelles d'utilisation de la photosynthèse, la culture accélérée, d'algues, Année Biologique, 32 ( 3-4 ) : 101 - 128.
- NICHOLS.A.W., H. Growth media fresh water In Hand book of pycological méthodes p: 7 -24.
- RAVAIL, B., et ROBERT, J.M, 1985: influence de la salinité sur la multiplication du *Skeletonema costatum* dans les eaux estuariennes de la loire, cryptogamie VI 01 : 51 - 60.
- RICHMOND,A., 1986 Microalgae of economic potentiel, in Hand book of microalgal mass culture : 199 - 243.
- ROBIN, J.H. 1981. Elevage annexe Algue, Aquaculture marine nouvelle 76: 13 - 17.
- SOROKIN, C., 1973., Dry Weight, packed celle volume and optical density In : Hand book of pycological methods p: 321-343.
- VIVIER, P et MANGUIN.E., 1943. Les algues d'eau douce et leur interet en pisciculture. Bull . Française de pisciculture, première année n° 192 : 137-155.
- VENKALARMA. N, G.S., 1969. The cultivation of algae ICAR : 237-245.
- Rapport : AGRI-TEC (Agence Algérienne d'appui Technique et Technologique à l'Agriculture).  
Programme . Agrispon : 105 p.

# ANNEXES I

## I - LES MILIEUX DE CULTURES

### I-1 Le milieu de Erdschreider (Mc LACHLAN - 1973)

Na NO <sub>3</sub>	1.18 - 2.35	mm/l
Na <sub>2</sub> HP O <sub>4</sub>	56 - 140	µm/l
Extrait de sol	50	ml
Eau de mer	1000	ml

### I-2 MEYER - 1947 (VENKATARMAN - 1969)

KN O <sub>3</sub>	1.21	g/l
Mg SO <sub>4</sub>	2.46	g/l
K <sub>2</sub> HP O <sub>4</sub>	1.23	g/l
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0.052	g/l

### I-3 Milieu de CONWAY - 1966 (HELM et Col 1949)

#### Solution A

Fe Cl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	02.60	g
Mn Cl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O	00.72	g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	67.20	g
EDTA (sel diava)	90.00	g
NH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2 H <sub>2</sub> O	40.00	g
Na NO <sub>3</sub>	200.00	g
Trace de métaux	2.00	ml
Eau distillée	2.00	l

1 ml est ajouté à chaque un litre d'eau de mer .

#### Solution B

Composition de la solution des traces des métaux

Zn Cl <sub>2</sub>	2.1	g
Co Cl <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O	2.0	g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> . Mo <sub>7</sub> . O <sub>24</sub> . 4 H <sub>2</sub> O	0.9	g
Cu SO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	2.0	g
Eau distillé	100	ml

Il est nécessaire d'eclaircir cette solutions par HCl.

#### Solution C

Solution vitaminique

B <sub>12</sub>	10	mg
B <sub>1</sub>	200	mg
Eau distillée	200	ml

0.1 sont ajoute à chaque litre d'eau.

## **ANNEXES II**

*(d'après HELM et Col 1979)*

*Le taux de croissance exprimé en  $\log_2$  s'écrit :*

$$K_2 = K_e \times 1,43$$

$$K_2 = K_{10} \times 3,32$$

où :

*$K_2$  = taux de croissance calculé par  $\log_2$*

*$K_e$  = taux de croissance calculé par  $\ln$*

*$K_{10}$  = taux de croissance calculé par  $\log_{10}$*

### ANNEXES III

Solution d'antibiotiques d'après soli (1963) in FIALA (1978) on prépare juste avant l'emploi une solution d'antibiotiques d'au moins 10 ml, selon le tableau suivant :

	Diatomés	Rotifère Noctiluca Micrononas
Penicilline sulfate	5	8
Streptomycine	1,6	2
Chloramphénicol	0,2	0,008

**TAB** : Melange d'antibiothiques: Quantité en mg/ml.

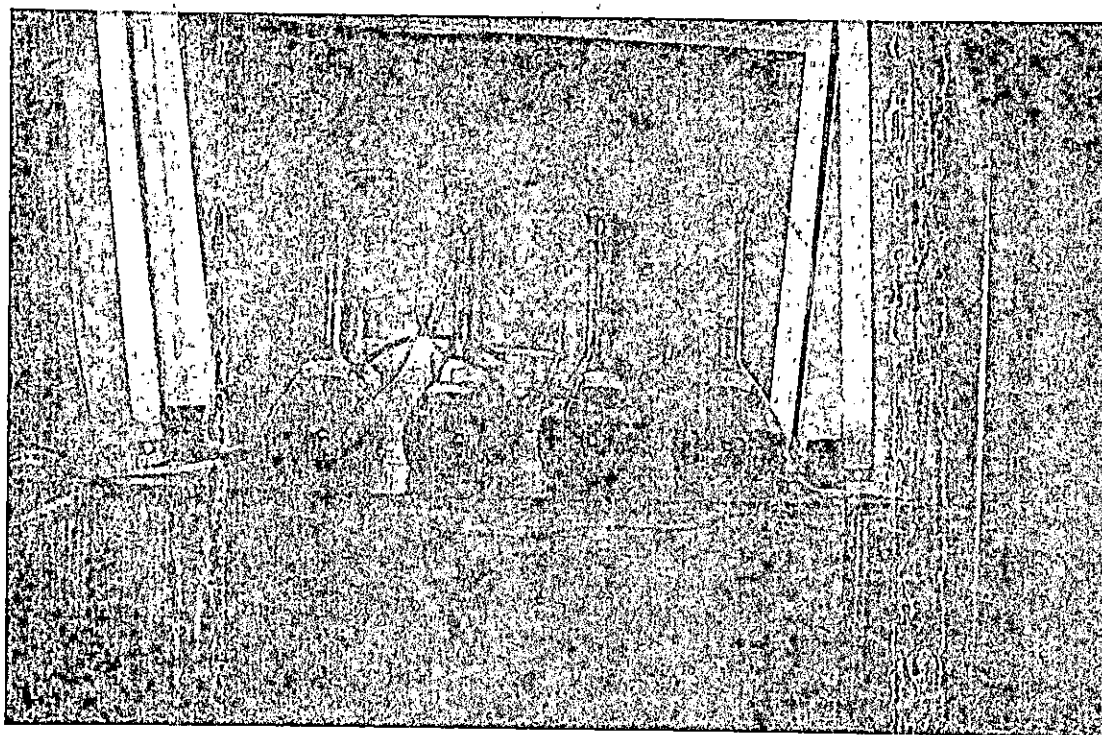
## ANNEXE IV

### CONDITIONS D'APPLICATION D'AGRISPON

#### IMPORTANT

Stopper l'utilisation de tous les produits chimiques une semaine avant et une semaine après application d'AGRISPON. En plasticulture, les délais peuvent être réduits à 04 jours avant et 04 jours après (éviter la raméncence des autres produits).

- \* Avant l'utilisation du produit nettoyer le matériel avec de l'eau ammoniquée ou vinaigrée à 1% et rincer à l'eau après.
- \* Pour réativer le produit agiter très fortement le flacon (pendant 1 à 2 minutes) avant son utilisation.
- \* L'eau de dilution est de 300 à 500 litres pour 1 à 1.5 litres d'AGRISPON
- \* Utiliser le produit dans le six (06) heures qui suivent sa dilution dans l'eau.



**Figure N° 11 : Vue de la culture des deux espèces dans les deux milieux de culture.**

## LISTE DES FIGURES

- Figure N° 01** : Autosporelation de la Chlorelle.
- Figure N° 02** : Morphologie de *Tetraselmis suecica*
- Figure N° 03** : Représentation schématique du processus de production de microalgues.
- Figure N° 04** : Différentes étapes de croissance des microalgues.
- Figure N° 05** : Quadrillages de quelques cellules de numération.
- Figure N° 06** : Variation de concentration de *Chlorella* sp. Dans les deux milieux exprimée en  $\log_2$  (cell/ml)
- Figure N° 07** : Variation de concentration de *Tetraselmis suecica* dans les deux milieux exprimée en  $\log_2$  (cell/ml)
- Figure N° 08** : Variation de concentration de *Chlorella* sp dans les 5 dilutions d'Agrispon exprimée en (Nbre cell/ml)
- Figure N° 09** : Variation de concentration de *Tetraselmis suecica* dans les dans les 5 dilutions d'Agrispon exprimée en (Nbre cell/ml)
- Figure N° 10** : L'effet cascade (LEHNINGER 1975).
- Figure N° 11** : Vue de la culture des deux especes dans les deux milieux de culture.

## LISTE DES TABLEAUX

- Tableau N° 01** : Caractéristiques des principales cellules et chambres de comptage.
- Tableau N° 02** : Caractéristiques et utilisations des microalgues en aquaculture.
- Tableau N° 03** : Composition biochimique exprimée en pourcentages (%) de poids sec de 07 espèces de microalgues.
- Tableau N° 04** : Concentration des différents éléments minéraux contenu dans Agrispon.
- Tableau N° 05** : La concentration de chaque élément dans la solution mère et le volume à prélever pour préparer un litre de milieu de Provasoli.
- Tableau N° 06** : Les variations de la concentration cellulaire de *Chlorella* sp exprimées en nombre de cell/ml, ou  $\text{Log}_2$  (Nbre de cell/ml) en fonction du temps dans les deux milieux.
- Tableau N° 07** : Résultats des taux de croissance de *Chlorella* sp dans les deux milieux de culture et dans les conditions expérimentales.
- Tableau N° 08** : Les variations de la concentration cellulaire de *Tetraselmis suecica*, exprimées en Nbre de cell/ml et  $\text{Log}_2$  (Nbre cell/ml) en fonction de temps dans les deux milieux.
- Tableau N° 09** : Résultat des taux de croissance de *Tetraselmis suecica*, dans les deux milieux et dans les conditions expérimentales.
- Tableau N° 10** : Les différentes dilutions et les volumes à prélever pour enrichir 2L d'eau (douce, ou salée).
- Tableau N° 11** : Variation de concentration de *Chlorella* sp dans plusieurs dilution d'Agrispon.
- Tableau N° 12** : Résultats des taux de croissance de *Chlorella* sp dans plusieurs dilutions d'Agrispon.
- Tableau N° 13** : Variations de la concentration de *Tetraselmis suecica* dans les cinq dilutions d'Agrispon.
- Tableau N° 14** : Résultats des taux de croissance de *Tetraselmis suecica* dans plusieurs dilutions d'Agrispon.