

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES



FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DES SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de Magister en Biologie
Option : Biodiversité et conservation des zones humides

Intitulé du thème :

Optimisation de la production de la biomasse microalgale
Par la méthode des plans d'expériences
Cas de *Dunaliella salina*

Présenté par :

Mr DOUKANI Bachir

Mémoire soutenue devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mr MOUEDENE Kadda «Professeur » UDL - SBA»

Examineur: Mr ABBOUNI Bouziane «Professeur » UDL - SBA»

Promoteur: Melle KOUDACHE Fatiha «Professeur » UDL - SBA»

Année universitaire 2015 - 2016

المخلص

دونالبيلا صالينا هو نوع فريد من الطحالب التي تطورت للعيش في الظروف البيئية القاسية. فهي ادا تعتبر مقاومة للظروف القسوى.

من خلال هذا العمل حاولت ايجاد الظروف الملائمة لنمو هذا الطحلب و ذلك من خلال العمل على تحسين اربعة عوامل خارجية و اساسية التي تؤثر بطريقة مباشرة على انتاج الكتلة الحيوية و ذلك لاستعمال الخطط التجريبية هذه الطريقة الاحصائية التي تتمثل في تتابع منظم للتجارب كل منها يسمح باكتساب معارف جديدة و ذلك بالتحكم في عامل واحد او عدة عوامل للوصول الى نتائج مبينة في نموذج مع اقتصاد ملائم لانتاج الكتلة الحيوية في شطوط الغرب الجزائري (شط ارزيو)

و لهذا قمنا بانتاج هذه السلالة في عوامل متحكم بها و ذلك في صور منفعلات حيوية . مع انتهاء هذا العمل وجدنا ان الطحلب دونالبيلا صالينا تنمو و تعطي اعلى نسب الانتاج في قيم معينة من العوامل المحسنة , هذا النمو سمح لنا بترتيبها حسب التأثير المباشر و الاهمية القسوى التي تعود على انتاج الكتلة الحيوية للطحلب الدقيق .

الكلمات الدلالية: دونالبيلا صالينا , الطحالب, الدقيقة , صور المفاعل الحيوي , شط ارزيو , الكتلة الحيوية , الخطط التجريبية .

RESUME

Dunaliella salina est une espèce unique de microalgues qui a évolué pour vivre dans des conditions environnementales extrêmes. Elle est considérée comme une extrémophile.

Par ce présent travail, j'ai essayé de trouver les meilleures conditions de développement de cette microalgues en optimisant quatre paramètres principaux qui influent d'une façon directe sur la production de la biomasse en utilisant la méthode de plans d'expérience cette méthode statistique qui se traduit par la suite ordonnée d'essais d'une expérimentation, chacune permettant d'acquérir de nouvelles connaissances en contrôlant un ou plusieurs paramètres d'entrée pour obtenir des résultats validant un modèle avec une bonne économie pour produire cette microalgue des salines de l'ouest algérien (salines d'Arzew). Pour cela on a cultivé cette souche dans des conditions contrôlées en photobioacteur.

En achevant ce travail, on a constaté que l'algue *Dunaliella salina* croit et donne le maximum de son rendement dans des valeurs bien définies des quatre paramètres optimisés, cette croissance nous a permis de classer ces paramètres par ordre d'action directe et d'importance majeure sur la production de la biomasse microalgale.

Mots clés: *Dunaliella salina*, microalgue, photobioacteur, Salines d'Arzew, biomasse, plans d'expérience.

ABSTRACT

Dunaliella salina is a unique species of microalgae that has evolved to live in extreme environmental conditions. It is considered as an extremophile.

For the present work, I tried to find the best conditions for development of this microalgae and optimize four key parameters that have influence in a direct way on the production of biomass using the method of experiment, this statistical method resulting in the ordered sequence of trial of an experiment, each to acquire new knowledge by controlling one or more input parameters to obtain result validating a model with a good economy to produce microalgae salt of west Algeria(Arzew Saline).For that we grow this strain in controlled conditions photobioreactor.

In completing this work, it was found that the algae *Dunaliella salina* believes and gives maximum performance in well-defined values of the four parameters optimize this growth has allowed us to classify this parameters in order of direct action and major importance on the production of biomass.

Key words: *Dunaliella salina*, microalgae, photobioreactor, salt of Arzew, biomass, an experience levels.

Résumé.....	01
Liste des figures.....	
Liste des tableaux.....	
Liste des abréviations.....	

INTRODUCTION	01
--------------------	----

Première partie : Synthèse bibliographique.

Chapitre I: Généralités sur les algues

I.1. Définition.....	03
I.2. Classification, description et types d'algue.....	07
I.2.1. Principaux groupes phylogénétiques d'algues	09
1.2.1.1. Diatomées	09
1.2.1.2 Chlorophytes	11
1.2.1.3 Euglenophytes	12
1.2.1.4 Pyrrhophytes	13
a) Cryptophytes.....	14
b) Dinophycées ou Péridinien.....	15
1.2.1.5 Chrysophytes ou Chromophytes	15
a) Chrysophycées.....	16
b) Xanthophycées.....	16
c) Phéophycées.....	16
e) Raphidophycées.....	17
1.2.1.6 phaeocystis	17
1.2.1.7 Rhodophytes	18
1.2.1.8 cyanophytes	19
I.2.2. Micro algues	22
I.2.2.1. Diversité de familles et d'espèces des microalgues	26
I.3. Algues et les plantes aquatiques	27
1.3.1. Algue	27
1.3.2. Plante aquatique	28
1.3.3. Algues filamenteuses	28
1.3.4. Périphyton	29
1.3.5. Charra	29
I.4. Physiologie	29
I.5. Ecologie	30
I.6. Habitat	30
I.7. Reproduction	30
I.8. Utilisation ,exploitation et valorisation des algues.....	32
I.8.1 composition biochimique.....	33
I.8.2. production de la biomasse.....	34
I.9. La filière microalgue.....	34
I.9.I.Une histoire récente.....	34
I.9.2. Une ressource naturelle durable et diversifiée.....	36
I.9.3. Capacité à fixer le carbone inorganique.....	37
I.9.4.Rendement photosynthétique, des taux de croissance et des productivités élevées.....	38
I.9.5.Micro algues comme ressource énergétique.....	39

I.9.6. Dynamique recherche et développement autour des Micro algues en Algérie..	41
I.9.7. Le projet Partisano Biotech Algerie.....	41

Chapitre II : Présentation de *Dunaliella salina*

II.1. <i>Dunaliella salina</i> une matière première à fort potentiel.....	43
II.1.1. <i>Dunaliella salina</i>	43
II.1.2. Historique.....	43
II.1.3. Taxonomie	46
II.1.3.1. Environnement naturel.....	47
II.1.3.2. Morphologie.....	48
II.1.3.3. Caractère halophile.....	49
II.1.3.4. Caractère hydrophobe.....	50
II.1.3.5. Photo-attraction-Phototaxie.....	50
II.1.4. Cycle de vie	51
II.1.5. Ecologie	51
II.1.5.1. Besoins nutritionnels	53
A. Source de Carbone.....	53
B. Source d'Azote	54
C. Phosphore	54
D. Magnésium et de Calcium	54
E. Chlorure et sulfate	55
F. Fer et autre élément	55
II.1.6. Facteurs du milieu.....	55
II.6.1. pH	55
II.6.2. Température	56
II.6.3. La Salinité.....	56
II.1.7. Bio constituants actifs disponible	56
II.1.7.1. Caroténoïdes	56
II.1.7.2. Minéraux	57
II.1.7.3. Vitamines.....	57
II.1.7.4. Acides aminés	57
II.1.7.5. Chlorophylle	58
II.1.8. Culture de <i>Dunaliella salina</i>	58
II.1.8.1. Différents système de culture existant.....	59
A. Système de culture fermés - photobioréacteurs(PBR).....	59
B. Système de Culture Ouvert:	62
C. Les étangs à bas-fonds	62
D. les « Raceway »(champs de course).....	63
II.1.9. Valorisation de <i>Dunaliella Salina</i>	65
II.1.9.1. Production de caroténoïdes.....	65
II.1.9.2. Production de biodiesel.....	66
II.1.9.3. Production de protéines.....	67
II.1.9.4. Production d'acide gras essentiels.....	67
II.1.9.5. Méthanisation des déchets de bioraffinerie.....	67

Chapitre III : Présentation des zones d'étude

III.1. Généralités sur les zones humides.....	68
III.1.1 Les zones humides en Algérie	68
III.2. Présentation de la zone d'étude.....	69
III.2.1. Salines d'Arzew	69
III. 2.1.1. Présentation générale	69
III.2.1.2.Ecologie de la zone d'étude.....	70
III. 2.1.3. Type de zone humide.....	70
A) Critères de Ramsar pour l'identification des salines d'Arzew.....	71
B) Justification des critères.....	71
Critère 1.....	72
Critère 6.....	72
III.2.1.4. Caractéristiques physique du site (Géomorphologie).....	72
III.2.1.5. Facteurs du milieu (facteurs écologiques).....	72
a)Valeurs hydrologiques.....	72
b) Caractéristiques écologiques.....	72
c) Faune diversifié.....	73
d) Flore remarquable.....	74
III.2.1.6. Valeurs sociales et culturelles.....	75

Deuxième partie : Étude expérimentale

Chapitre I : matériel et méthodes.....
I.1.. Matériel.....	76
a) Matériel biologique	76
b) Matériel non biologique.....	77
II.2.. Méthodes.....
II.1 Culture de <i>Dunaliella Salina</i>	82
II.1.1.Origine du matériel biologique.....	82
II.1.2. Conservation des échantillons.....	82
II.1.3.Milieu de culture.....	83
II.1.4.Milieu nutritif de Johnson.....	83
II.1.5.Mise en place de la plateforme de culture en laboratoire.....	84
II.1.6.Procédure de suivi des cultures en laboratoire.....	86
II.1.7.Maturation des cultures.....	86
II.2. Les plants D'expériences.....	90
II.2.1. Notion d'espace expérimental.....	90
II.2.2. Notion de surface de réponse	93
II.2.3. Notion de modélisation mathématique.....	94
II.2.4. Analyse de la variance ANOVA.....	94
II.2.5. Notion d'espace expérimental.....	95
II.2.1. Calcule des carré moyen des facteurs et des interactions.....	90

Troisième partie : Résultats et Discussion

CHAPITRE I: Résultats	96
CHAPITRE II: Discussion.....	128
CONCLUSION	131
Références bibliographique.....	132
Annexe.....	152

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°1 : Comparaison de diverses sources possibles de biodiesel	39
Tableau N°2 : Les espèces <i>Dunaliella</i> sélectionnés	28
Tableau N°3: Tous les acides aminés essentiels contenants dans <i>Dunaliella salina</i>	30
Tableau N°4: Recensement hivernal des espèces focales	47
Tableau N°5: Recensement hivernal des oiseaux d'eau	47
Tableau N°6 : Milieu Johnsons Modifié	54
Tableau N°7: récapitulatif des expériences et des valeurs de chaque paramètre.....	87
Tableau N°8: Résultat expérience N°1.....	89
Tableau N°9: Résultat expérience N°2.....	99
Tableau N°10: Résultat expérience N°3.....	100
Tableau N°11: Résultat expérience N°4.....	101
Tableau N°12: Résultat expérience N°5.....	102
Tableau N°13: Résultat expérience N°6.....	103
Tableau N°14: Résultat expérience N°7.....	104
Tableau N°15: Résultat expérience N°8.....	105
Tableau N°16: Résultat expérience N°9.....	106
Tableau N°17: Résultat expérience N°10.....	107
Tableau N°18: Résultat expérience N°11.....	108
Tableau N°19: Résultat expérience N°12.....	109

Tableau N°20: Résultat expérience N° 13.....	110
Tableau N°21: Résultat expérience N° 14.....	111
Tableau N°22: Résultat expérience N° 15.....	112
Tableau N°23: Résultat expérience N° 16.....	113
Tableau N°24: Tableau des coefficients.....	114

LISTE DES FIGURES

Figure N°1: Tronc d'arbre recouvert de <i>Pleurococcus</i>	04
Figure N°2: <i>Fucus Vésiculosus</i>	05
Figure N°3: <i>Ulva</i> (Laitue de Mer).....	06
Figure N°4 : <i>Chlorococcum</i>	08
Figure N°5 : <i>Chlamydomonas</i>	08
Figure N°6: <i>Ulothrix</i> sp.....	09
Figure N°7: diatomée vivante (<i>Gyrosigma acuminata</i>).....	10
Figure N°8: Quelque exemple des <i>chlorophytes</i>	12
Figure N°9: Quelque exemple des Euglenophytes	13
Figure N°10: Quelque exemple des Dinoflagellés	13
Figure N°11: Dinoflagellé <i>Ceratium</i> sp	14
Figure N°12: Quelque exemple des Cryptophyta	15
Figure N°13 : Chrysophytes	15
Figure N°14: <i>Phaeocystis Antarctica</i>	17
Figure N°15: Quelque exemples des Rhodophytes	18
Figure N°16: Algues rouges ou Rhodophycées	18
Figure N°17: Quelque exemple des Cyanophytes	20
Figure N°18: Cyanobactérie <i>Anabaena</i>	20
Figure N°19: Phylogénie des algues d'après "La classification génétique du vivant".....	22
Figure N°20 : Dessins de Hamburger (1905) de globules rouges (<i>Dunaliella salina</i>).....	55
Figure N°21: <i>Dunaliella salina</i> (1-17) conservé avec différentes techniques de fixation, (3), cristaux de pigment; (8), les granules d'amidon; (10-13), les étapes de division; (14,15), aplanospores; (16 - 17), et les cellules vertes (<i>Dunaliella viridis</i>).....	56

Figure N°22: Agrégation du rouge et du vert sous la forme de <i>Dunaliella salina</i> (partie supérieure) et la formation du zygote de <i>Dunaliella salina</i> (vert et rouge forme) (partie inférieure).....	52
Figure N°23: Photographie d'un photobioréacteur tubulaire en hélice.....	60
Figure N°24: Photographie d'un photobioréacteur tubulaire en ligne.....	61
Figure N°25: Photographie d'un photobioréacteur cylindrique	61
Figure N°26: lac Hillier en Australie	63
Figure N°27: Photographie aérienne des bassins de culture d'Earthrise Nutritionals	64
Figure N°28: Photographie aérienne des bassins de culture de cyano tech hawai.....	64
Figure N°29: Image satellitaire des salines d'Arzew, wilaya d'Oran	70
Figure N°30: Vue globale des Salines d'Arzew	71
Figure N°31: Sebkhia d'Arzew: vue d'ensemble du lac salé.....	73
Figure N°32: Les échantillons conservés au laboratoire PBA.....	76
Figure N°33: Microscope optique.....	77
Figure N°34: Etuve.....	77
Figure N°35: Rampe de filtration six tête en inox.....	77
Figure N°36: Multiparamètre Hanna.....	78
Figure N°37: Balance Analytique.....	78
Figure N°38: Balance Désicatrice.....	78
Figure N°39: Divers Verreries.....	79
Figure N°40: Divers Verreries.....	79
Figure N°41: Photobioéacteur Cylindrique double tube.....	79
Figure N°42: Photobioéacteur plat Ep 40 mm.....	80
Figure N°43: Montage Expérimental.....	80
Figure N°44: Système de contrôle de paramètre.....	81
Figure N°45: Les différentes étapes de la concentration de la culture.....	85
Figure N°46: Le réacteur cylindrique en pleine production.....	87
Figure N°47: Les réacteurs plats en pleine production.....	88

Figure N°48: deux réacteurs plat un illuminé et l'autre obscure.....	88
Figure N°49: Le dis positive en face obscure.....	89
Figure N°50: un réacteur illuminé.....	89
Figure N°51: Les niveau du facteur.....	91
Figure N°52: Espace expérimental.....	92
Figure N°53: Le point expérimental.....	92
Figure N°54: Les points expérimentaux.....	93
Figure N°55: Evolution de la biomasse expérience N°01.....	98
Figure N°56: Evolution de la biomasse expérience N°02.....	99
Figure N°57: Evolution de la biomasse expérience N°03.....	100
Figure N°58: Evolution de la biomasse expérience N°04.....	101
Figure N°59: Evolution de la biomasse expérience N°05.....	102
Figure N°60: Evolution de la biomasse expérience N°06.....	103
Figure N°61: Evolution de la biomasse expérience N°07.....	104
Figure N°62: Evolution de la biomasse expérience N°08.....	105
Figure N°63: Evolution de la biomasse expérience N°09.....	106
Figure N°64: Evolution de la biomasse expérience N°10.....	107
Figure N°65: Evolution de la biomasse expérience N°11.....	108
Figure N°66: Evolution de la biomasse expérience N°12.....	109
Figure N°67: Evolution de la biomasse expérience N°13.....	110
Figure N°68: Evolution de la biomasse expérience N°14.....	111
Figure N°69: Evolution de la biomasse expérience N°15.....	112
Figure N°70: Evolution de la biomasse expérience N°16.....	113

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide DéoxyriboNucléique

°C : degré celsius

Ca : calcium

CO₃²⁻ : carbonate

DGF : direction générale des forêts

E : est

g : gramme

ha : hectare

J : jour

Km : kilomètre

m : mètre

m² : mètre cube

Mg : magnésium

mg : milligramme

mm : millimètre

N : nord

NaCl : chlorure de sodium

NH₃ : ammoniac

NO₂ : dioxyde d'azote

NO₃ : nitrate

pH : potentiel d'hydrogène

USA :

µm: micromètre

% : pour cent

PBA:Partisano Biotech Algerie

SPPM SPA: Société de production de plants de la mékkera

ddl : degré de liberté

INTRODUCTION

Introduction

Les algues sont des organismes chlorophylliens se développant dans l'eau ou dans des milieux très humides. Bien que surtout abondantes dans les eaux des mers, des lacs, des mares, des eaux courantes et des eaux thermales, on en trouve également sur les roches humides et sur la terre. Exceptionnellement, elles peuvent être endophytes de tissus animaux ou végétaux (**Iltis, 1986**).

Groupées avec les champignons dans la division des Thallophytes, « les algues constituent en réalité un vaste ensemble hétérogène d'embranchements très distincts les uns des autres et n'ayant entre eux que peu de caractères communs » (**Feldmann, 1963**). La distinction entre ces différents embranchements d'algues est faite d'après des caractères d'ordres cytologique et biochimique ainsi que des différences de structure et de mode de reproduction. En dehors de nombreuses formes unicellulaires, on trouve des algues pluricellulaires formant des thalles sans feuilles, ni tiges, ni racines, ni vaisseaux conducteurs (**Iltis, 1986**).

Les microalgues et les cyanobactéries sont des organismes qui utilisent la lumière comme source d'énergie pour fixer le dioxyde de carbone (CO₂). Ces microorganismes, dont la taille varie du micron à la centaine de microns se trouvent en abondance dans les milieux aquatiques (océans, rivières, lacs, etc.) (**Sheehan et al in Cadoret et Bernard, 2008**).

La biodiversité de ces microalgues est énorme puisqu'il est estimé qu'il ya entre 200 000 et plusieurs millions le nombre d'espèces d'algues existantes, ce qui est très supérieur aux 250 000 espèces de plantes supérieures recensées ; une telle diversité non exploitée constitue un réel potentiel pour la recherche et l'industrie (**Keeling et al. 1999, Hedges et al. 2004 et Teyssède, 2006 in Cadoret et Bernard, 2008**).

Parmi ces microalgues, se trouve *Dunaliella salina*, Chlorophycée unicellulaire halotolérante qui vit dans les salines (salinité voisine de 350 g/l) (**Krinsky et Johnson in Riyahi et al, 2007**), grâce à la synthèse d'une série de molécules qui la protègent contre les conditions extrêmes de salinité, de température et de rayonnement solaire (**Anonyme, 2013**). *Dunaliella salina* est capable d'accumuler du β-carotène, ce pigment d'origine naturelle, dix fois plus actif que le β-carotène de synthèse, est utilisé comme colorant alimentaire, source de vitamine A dans l'alimentation animale et humaine et additif en cosmétologie. Les carotènes sont des pro-vitamines A favorisant la vision de nuit et inhibant les radicaux libres produits

par les ultraviolets, grâce à leur potentiel antioxydant (**Krinsky et Johnson in Riyahi et al, 2007**).

Dunaliella salina est une algue verte unicellulaire (**Oren, 2005**), bi-flagellé (**Borowitzka, 1990**), qui se développe spontanément dans les milieux lagunaires très salés. Sa taille varie entre 16 et 24 µm de long et entre 10 et 15 µm de large (**Cadoret et Bernard, 2008**). Elle produit une couleur distincte rose et rouge souvent caractéristique des mares salines (**Oren et Rodriguez, 2001**), et se caractérise par ses capacités à se protéger des espèces invasives (**Chabert, 2011**).

C'est une espèce unique de micro-algues qui a évolué pour vivre dans des conditions environnementales extrêmes. Elle est considérée comme une extrémophile (**Rothschild et Mancinelli, 2005**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui vise à :

- Optimiser les conditions de la production de la biomasse microalgale par la méthode de plant d'expérience ;
- Fixation des conditions éco-biologique optimales qui favorisent la croissance et le développement de cette microalgue dans un milieu artificielle.

Le mémoire est constitué de deux (02) parties :

La première est consacrée à l'étude bibliographique, comprenant trois (03) chapitres: généralités sur les algues et une présentation de l'espèce ainsi qu'une présentation des zones d'étude.

La deuxième partie comprend: la méthode, les expériences y compris la mise en place de la plateforme et le suivi de la culture en laboratoire, ensuite la troisième partie la présentation des résultats et la discussion.

Enfin, une conclusion générale achèvera ce document en plus des principales références bibliographiques.

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur les algues

I.1. Définition

Les algues sont définies comme des organismes eucaryotes (excluant les cyanobactéries qui sont des procaryotes photosynthétiques) dépourvus de racines, de tige (absence de tissus vasculaires) et de feuilles, mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse productrice d'oxygène. Les cyanobactéries (ex algues bleues ou Cyanophycées) sont généralement étudiées ensemble car bien que ne possédant pas de noyau, elles ont beaucoup d'affinités avec les algues vraies. Les algues sont classées dans le groupe des thallophytes, dans le règne végétal, mais du fait de la diversité des formes, certaines espèces phytoplanctoniques sont classées dans le règne des protistes qui regroupe les eucaryotes unicellulaires. La taille des algues peut varier de la cellule microscopique unique, à quelques cellules en colonie et jusqu'à 75 m (laminaires, sargasses) pour certaines formes multicellulaires (**Cavalla, 2000**).

Ce terme général englobe beaucoup d'organismes très différents dont la classification phylogénétique a récemment été entièrement révisée. Les divergences entre les groupes d'algues sont nettement supérieures à celles constatées dans le groupe pourtant varié des Cormophytes : mousses et hépatiques, fougères, lycopodes et prêles, ginkgo, cycas et conifères, angiospermes. On parlait autrefois (et on peut toujours le faire dans la pratique, mais en connaissant les limites) d'algues bleues (qui ne sont pas de vraies algues, car proches des bactéries), rouges, vertes, jaunes ou brunes en fonction de leur couleur dominante. Si le groupe des algues rouges est homogène, les autres groupes ont éclaté et correspondent à des groupes qui n'ont parfois rien à voir entre eux dans la classification. On trouvera ci-dessous un tableau simplifié, quoiqu'encore assez complexe, de la classification actuelle qui ne présente que les principales lignées. Même le mode de vie n'est pas un point commun entre les algues, puisque certaines, unicellulaires, flottent dans les eaux douces ou salées (phytoplancton) ou sont fixées sur la vase, les rochers ou les autres algues, d'autres, filamenteuses ou à thalle complexe, sont fixés au fond ou au bord des eaux marines ou lacustres, d'autres, de structure assez simple, ont un mode de vie aérien (sur la terre, la roche ou les écorces) et d'autres encore vivent en symbiose ou parasites sur d'autres êtres vivants.

Nous nous limiterons ici aux algues macroscopiques fixées sur les rivages marins (ce sont les plus connues, les plus visibles et aussi les plus utilisées, mais pas forcément les plus nombreuses en espèces) (**Mannville, 2009**).

Les algues sont des végétaux beaucoup moins connus que les plantes terrestres, et beaucoup plus difficiles à appréhender. Elles occupent en grande partie les milieux aquatiques, en particulier marins et sous-marins et constituent un ensemble d'organismes extrêmement divers qu'il est fort difficile de présenter de manière univoque. Un grand nombre d'entre elles, pour ne pas dire une large majorité, sont des formes unicellulaires (micro-algues) dont la reconnaissance nécessite des techniques microscopiques parfois très élaborées. Sur le plan de la systématique, les algues sont également très diversifiées ce qui témoigne de leur très longue histoire génétique. Elles ne constituent pas au sein des végétaux un ensemble homogène, mais se répartissent entre plusieurs lignées évolutives complètement indépendantes les unes des autres (**Julie, 2011**).

La plupart des algues se développent en milieu aquatique d'eau douce, saline ou saumâtre, mais certaines sont terrestres et sont capables de se développer à même le sol ou sur le tronc des arbres. Dans l'eau, les algues ainsi que de petites plantes forment le phytoplancton, le zooplancton étant constitué par des animaux et des protistes non photosynthétiques. Certaines algues se développent sur des rochers humides, sur le tronc des arbres (*Pleurococcus*, Chlorophytes), ou sur un sol mouillé (*Nostoc*, Cyanobactérie). D'autres sont des endosymbiotes de protozoaires (Zooxanthelles chez *Paramecium bursaria*), de plantes (*Anabaena* chez *Azolla*, *Cycas*), d'hydrides, de bryozoaires, de mollusques, vers ou coraux chez lesquels elles se développent dans le cytoplasme. Des algues vivent en symbiose avec des champignons pour former les lichens. Les algues et les cyanobactéries sont parmi les premiers organismes apparus sur Terre. Aux USA au voisinage des grands lacs, on a trouvé des cyanobactéries fossiles ressemblant à des oscillaires dans des terrains cambriens de 2 milliards d'années (**Cavalla, 2000**).



Figure N°1: Tronc d'arbre recouvert de *Pleurococcus*

(**MASSON - 2014**)

Ainsi, en ce qui concerne les algues marines, on distingue essentiellement trois lignées d'évolution : la lignée brun-jaunes avec les algues brunes, la lignée rouge avec les algues rouges et la lignée verte qui regroupe à la fois les algues vertes, les mousses, les fougères et les plantes à fleurs.

Il y a en effet, malgré les convergences de forme, plus de différences génétiques entre une algue brune comme un *Fucus* (goémon de rive) et une algue verte de genre *Ulva* (laitue de mer), qu'entre cette dernière et un chêne ! Cette grande hétérogénéité explique la richesse et la diversité biochimique à l'origine de leur exploitation.



Figure N°2:fucus Vésiculosus (Anonyme 01)



Figure N°3: *Ulva* (Laitue de Mer) (Anonyme 01)

Diversité d'espèces d'algues

Difficile d'inventorier cette diversité, notamment pour les algues unicellulaires, tant leur nombre est grand, leur diversité inconnue et leur recensement et classification en constante évolution. La base de données internationale sur les algues AlgaeBase recense environ 127 000 noms d'espèces, dont la majorité de micro-algues. Il y aurait environ 9 000 espèces de macro algues, dont 1 500 peuplent les mers d'Europe, et le nombre total de micro-algues, quant à lui, varie selon les estimations de 100 000 à plusieurs millions (**Mathieu, 2011**).

Les Algues peuvent être définies comme des Thallophytes pourvus de pigments assimilateurs, ce groupe englobe des Thallophytes dont la structure cellulaire est incomplète, notamment par l'absence de véritable noyau (Protocaryotes) et des Thallophytes dont les cellules comportent tous les constituants habituels, en particulier un noyau bien individualisé (Eucaryotes) (**Gayral, 2007**).

Les algues constituent un ensemble hétérogène, difficile à caractériser, qui comprend des végétaux unicellulaires, coloniaux, et pluricellulaires mais qui ne possèdent ni racines, ni tiges, ni feuilles (ce sont des thallophytes). De couleurs diverses – vertes, jaunes, brunes ou rouges –, elles contiennent toujours de la chlorophylle. On en compte quelque 27 000 espèces **(Ittis, 1986)**

Le mot algue représente un grand groupe de différents organismes de différents groupes phylogénétiques, représentant de nombreuses divisions taxonomiques. En général, une *algue* peut être référée à des organismes semblables aux plantes qui sont souvent photosynthétiques et aquatiques, mais n'ont pas de véritables racines, tiges, feuilles, tissus vasculaires et ont des structures reproductives simples. Elles se trouvent partout dans le monde dans l'eau de mer, dans l'eau douce et dans les sols humides. La plupart sont microscopiques, mais certaines sont assez grandes, par ex: certaines algues marines peuvent dépasser 50 m de long. Une algue a de la chlorophylle et peut fabriquer sa propre nourriture par le procédé de photosynthèse. Récemment, elles ont été classées dans le groupe des protistes, qui comprend une variété d'organisme unicellulaire et certains organismes simples eucaryotes multi nucléaires et multicellulaires **(Pruvost, 2011)**.

Presque toutes les algues sont eucaryotes et effectuent la photosynthèse par l'intermédiaire de leur chloroplaste (corpuscule de la cellule végétale contenant de la chlorophylle) qui contient l'ADN. La nature exacte des chloroplastes est différente suivant les différents types d'algues.

Les cyanobactéries sont des organismes traditionnellement inclus dans les algues, mais elles ont une structure cellulaire procaryote typique des bactéries et procèdent à la photosynthèse directement depuis le cytoplasme, plutôt que dans des organelles spécialisées **(Potin, 2011)**.

I.2. Classification et description des algues

Les algues possèdent des chloroplastes et pratiquent donc la photosynthèse de composés organiques. Hormis la chlorophylle, d'autres pigments sont responsables de colorations caractéristiques (brune, jaune, rouge...), la nature biochimique de ces pigments constituant d'ailleurs la base de la classification des algues. C'est ainsi que l'on distingue les algues vertes, dont la plupart constituent le groupe des chlorophycées, les algues brunes

comme les phéophycées et les algues rouges, ou rhodophycées. Il existe également des algues jaunes, les xanthophycées (**Lando, 2011**).

Les algues peuvent être des individus unicellulaires, tels *Chlorococcum* vivant sur le tronc des arbres ou *Chlamydomonas* vivant en eau douce. À l'opposé, les laminaires peuvent atteindre près de 4 m et les sargasses sont longues de plusieurs dizaines de mètres (**Pruvost, 2011**)

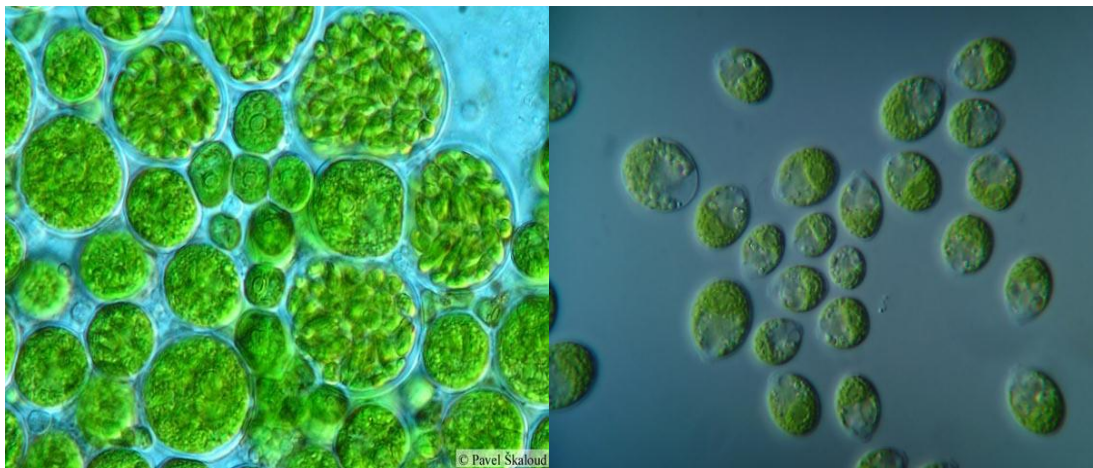


Figure N°4: *Chlorococcum*

(Anonyme 01)

Figure N°5: *Chlamydomonas*

(Anonyme 02)

Que se soit, en effet, au niveau cellulaire pour l'observateur aidé du microscope ou au niveau macroscopique, les algues révèlent une étonnante diversité de formes, de couleurs, d'architectures qui ne peuvent être retrouvées ailleurs dans l'un ou l'autre des règnes animal ou végétal. Mais outre le plaisir esthétique que lui réserve l'observation des algues et auquel il ne peut être insensible, le biologiste, attentif à tous les indices susceptibles de lui livrer les voies par lesquelles a cheminé l'évolution, trouve, dans l'analyse des structures cellulaires et des plans d'organisation de ces végétaux, des fils conducteurs qui lui permettent d'imaginer logiquement, à l'intérieur des grands phylums, non seulement les étapes qui ont marqué la

progression des formes, des plus simple au plus complexes, mais aussi, parfois, le retour de ces dernières à des aspects apparemment primitifs (Gayral, 2007).

La diversité se retrouve également dans les formes. Beaucoup d'algues sont filamenteuses, telle que l'*Ulothrix*, une algue verte, constituée de compartiments ou de cellules mises bout à bout. Certaines d'entre elles sont même ramifiées. On trouve également des algues membraneuses très aplaties, comme *Ulva* (ulve, ou « laitue de mer »), composée d'une ou deux assises cellulaires seulement. Les algues rouges et brunes comportent, elles, de nombreuses formes massives et variées.

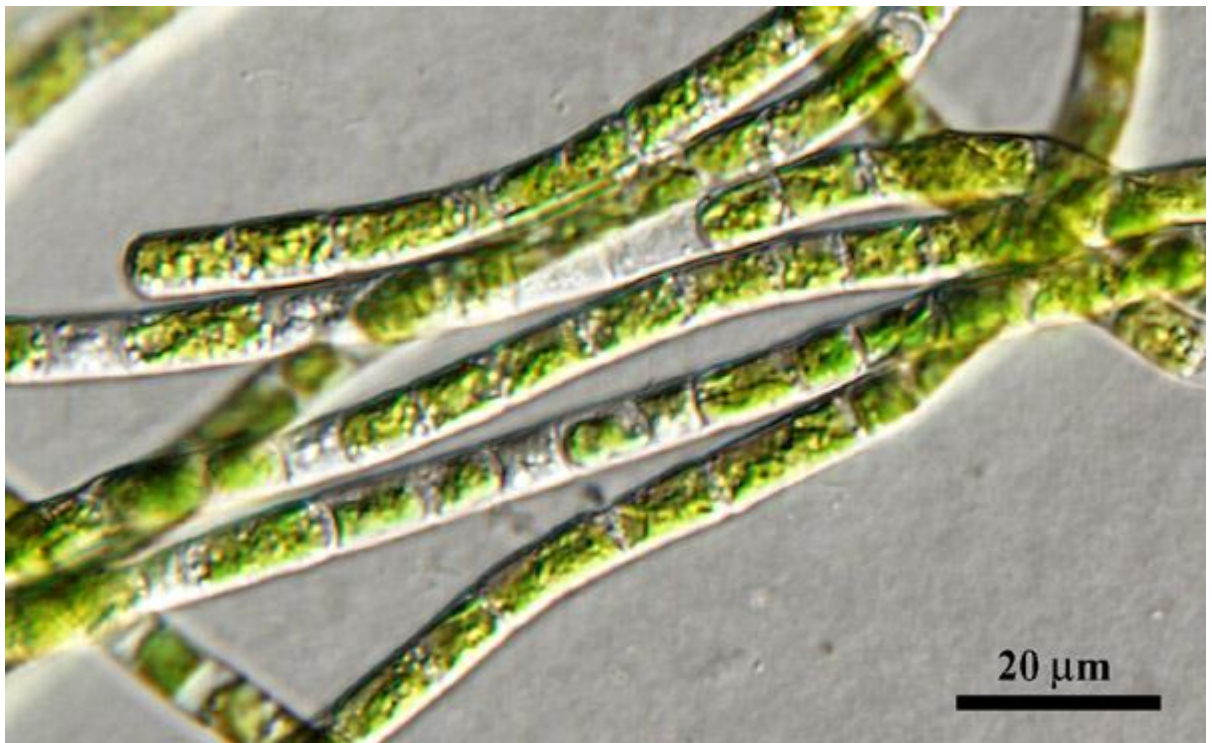


Figure N°6: *Ulothrix* sp (Anonyme 01)

I.2.1. Les principaux groupes phylogénétiques d'algues :

I.2.1.1. Diatomées: se sont des algues unicellulaires ou coloniales, quelques fois filamenteuses, à plastes bruns ou jaunes contenant de la chlorophylle a et c, du β carotène et plusieurs xanthophylles. Elles sont caractérisées par leurs parois cellulaires imprégnées de silice formant une logette bivalve appelée frustule. Celui-ci a l'aspect d'une boîte surmonté

d'un couvercle, les deux valves sont ornementées de stries, pores, aiguillons, épines qui ont un grand rôle dans la systématique de ses organismes (Iltis, 1986).



FigureN°7: diatomée vivante (*Gyrosigma acuminata*) sous un microscope optique, X1000 fois. (Paul Hamilton.2010)

Ce sont des organismes unicellulaires de la famille des protistes, caractérisées par une coque en silice d'une sculpture souvent belle et complexe. La plupart des diatomées existent séparément, bien que certaines se joignent en colonies. Elles sont généralement jaunâtres ou brunâtres, et se trouvent dans les eaux salées et les eaux douces, dans les sols humides, et sur la surface humide des plantes. Elles sont marines et d'eau douce apparaissent en grande abondance au début de l'année en tant qu'élément du phénomène connu sous le nom de *spring bloom*, qui se produit en raison de la disponibilité de la lumière et des nutriments (régénérés de l'hiver). Elles se reproduisent de manière asexuée par division cellulaire. Lorsque les diatomées aquatiques meurent, elles tombent dans le fond, et les coques n'étant pas sujettes au pourrissement, se rassemblent en boue et éventuellement forment le matériel connu sous le

nom de terre diatomée. Les diatomées peuvent se produire sous forme plus compacte en tant que roche molle, crayeuse, légère, appelée *diatomite*.

Cette dernière est utilisée comme matériel isolant contre la chaleur et le bruit, dans la fabrication de dynamite et d'autres explosifs, et pour des filtres, des abrasifs, et des produits similaires (**Potin , 2011**).

I.2.1.2. Chlorophytes: ce sont comme tous les autres groupes des eucaryotes à noyau bien individualisé ; elles possèdent des plastes d'un vert franc contenant de la chlorophylle a et b associée à de l' α et β carotène et des xanthophylles identiques à celles des plantes supérieures. Les réserves sont constituées d'amidon intraplastidial colorable en bleu par la solution iodo-iodurée. Les formes nageuses possèdent en général deux ou quatre flagelles de même taille. Les chlorophytes qui regroupent environ six cent genres et plus de huit mille espèces dont les quatre cinquièmes vivent en eaux douce, (**Iltis, 1986**).

C'est une division de la famille des protistes comprenant l'organisme photosynthétique couramment appelé *algue verte*. Les diverses espèces peuvent être des unicellulaires, des multicellulaires, des syncytiums (ayant plus d'un noyau dans la cellule), ou des colonies.

Les chlorophytums sont plutôt aquatiques ou marins, une petite quantité est terrestre, se produisant dans les sols humides, sur les troncs des arbres, sur les roches humides et dans les congères. Diverses espèces sont hautement spécialisées.

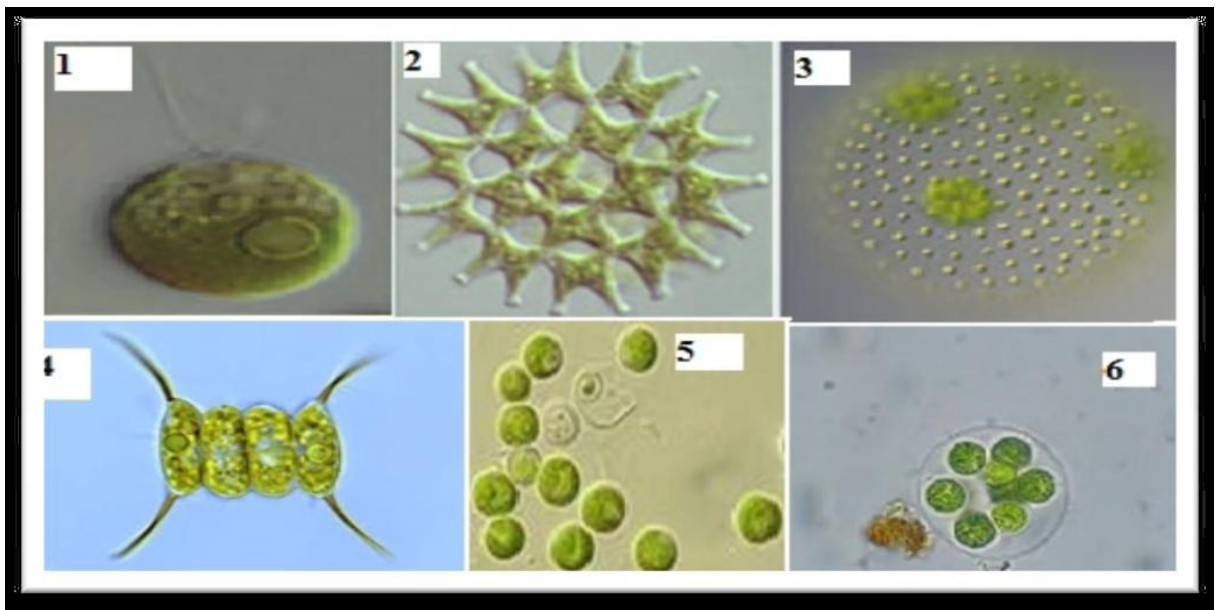


Figure N°8: exemple des *chlorophytes* : 1- *Chlamydomonas reinhardtii*, 2- *Pediastrum boryanum*, 3- *Volvox aureus*, 4- *Scenedesmus protuberans*, 5- *Chlorella vulgaris*, 6- *Palmella miniata* (LELIAERT et al, 2012)

1.2.1.3. Euglenophytes: ce sont des algues unicellulaires et flagellées, le plus souvent mobiles avec des plastes verts contenant de la chlorophylle a et b associé à du β carotène et des xanthophylles. Certaines espèces emmagasinent de l'hématochrome (astaxanthine) et prennent une teinte rouge qui masque la teinte verte des plastes. Les réserves sont constitués de grains de paramylon, substance non colorable par la solution de l'iodo-iodurée de lugol, mais présentant en lumière polarisée le phénomène de la croix noir comme l'amidon véritable. Ce paramylon est extraplastidiale. Le ou les fouets sortent d'une fossette apicale ou subapicale. Les Euglenophytes sont présentes dans les milieux riches en matières organiques (Iltis, 1986).

C'est un petit embranchement de la famille des protistes, composé principalement d'algues aquatiques unicellulaires. Certains euglénoïdes contiennent des chloroplastes avec des pigments photosynthétiques; d'autres sont hétérotrophes et peuvent ingérer ou absorber leur nourriture. La reproduction se fait par division cellulaire longitudinale. La plupart vit dans l'eau douce. Le genre le plus caractéristique est l'*Euglena*, courant dans les étangs et les piscines, spécialement lorsque l'eau a été polluée par écoulement depuis des champs ou des pelouses sur lesquels des engrais ont été utilisés. Il existe environ 1000 espèces d'euglénoïdes (jullie, 2011)

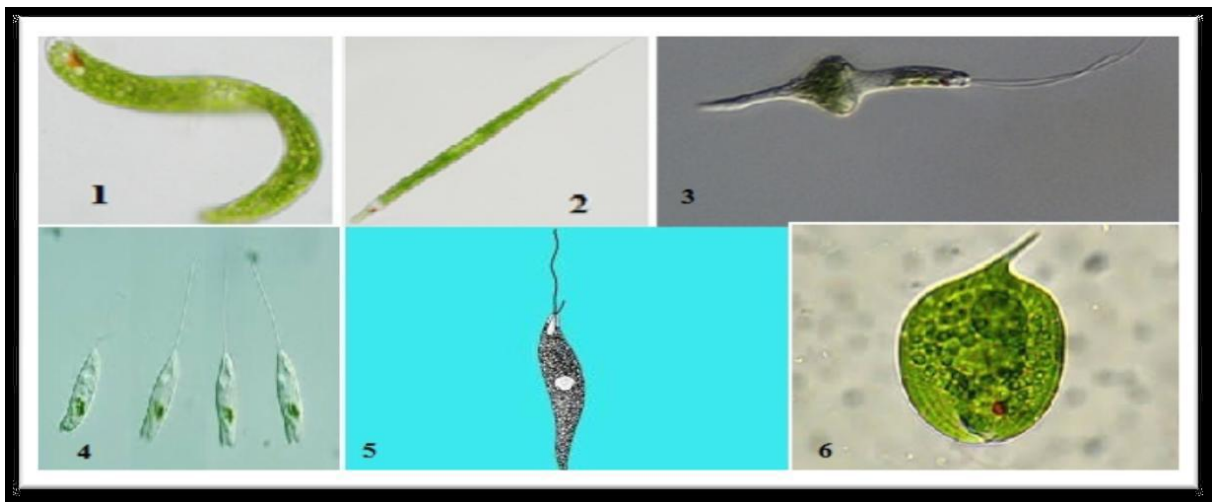


Figure N°9 : exemple des Euglenophytes : 1-*Euglena ehrenbergii*, 2- *Euglena acus*, 3- *Eutreptia pertyi* 4- *Peranema trichophorum*, 5- *Distigma proteus* , 6 – *Phacus triqueter* .
(Algaebase.org.)

1.2.1.4. Les Pyrrhophytes: ou dinoflagellés, ils ont des plastes bruns, plus rarement rouges ou bleu-verts contenant des chlorophylles a et c, du β carotène et parfois des biliprotéines. Les formes unicellulaires biflagellées sont très nombreuses. Les réserves sont constituées par de l'amidon extraplastidiale (Iltis, 1986).

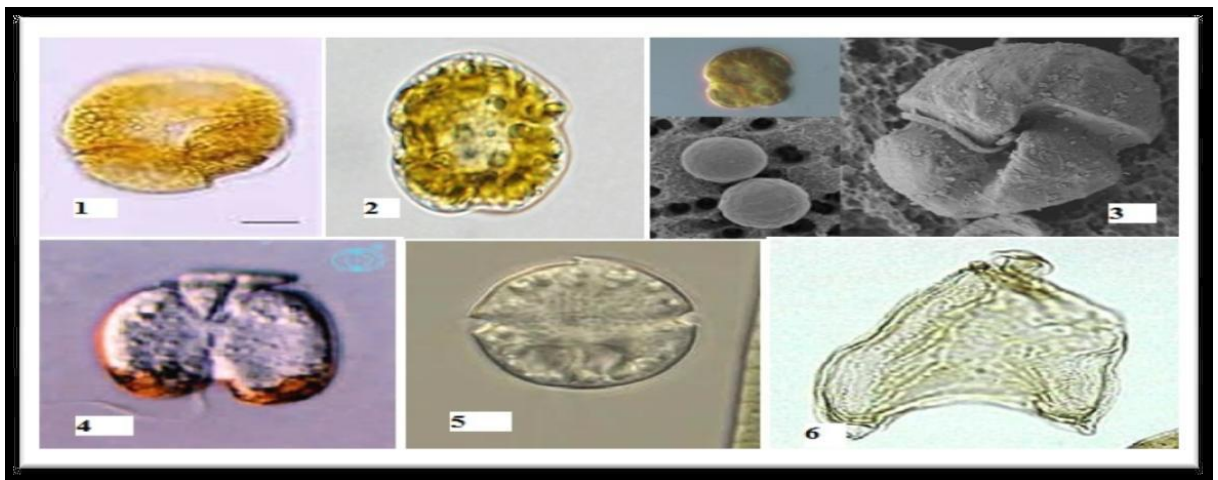


Figure N° 10 : exemple des Dinoflagellés : 1-*Borghiella tenuissima*, 2-*Biecheleria baltica*, 3-*Symbiodinium voratum*, 4-*Herdmania litoralis*, 5- *Amphidinium bipes*, 6- *Nannoceratopsis gracilis*.(Algaebase.org.)



Figure N°11: Dinoflagellé *Ceratium sp* (Anonyme 02)

Ils forment un grand groupe des protistes flagellés. Certaines espèces d'entre eux sont hétérotrophes, mais beaucoup sont des organismes photosynthétiques contenant de la chlorophylle. Divers autres pigments peuvent masquer le vert de ces chlorophylles. D'autres espèces sont des endosymbiontes d'animaux marins et de protozoaires, et jouent un rôle important dans la biologie des récifs coralliens. D'autres dinoflagellés sont des prédateurs sans couleurs sur d'autres protozoaires, et certains forment des parasites.

La reproduction de la plupart des dinoflagellés est asexuée, par une simple division des cellules suivant la mitose. Ils sont d'importants constituants du plancton, et ainsi une source première importante de nourriture dans les océans plus chauds. Beaucoup de formes sont phosphorescentes; ils sont énormément responsables de la phosphorescence la nuit dans les mers tropicales. Il existe approximativement 2000 espèces de dinoflagellés. On distingue deux classes :

a) Les Cryptophycées : elle sont toutes unicellulaires, à fouets légèrement inégaux, insérés latéralement et dirigés dans le même sens, sortant d'un cytopharynx.

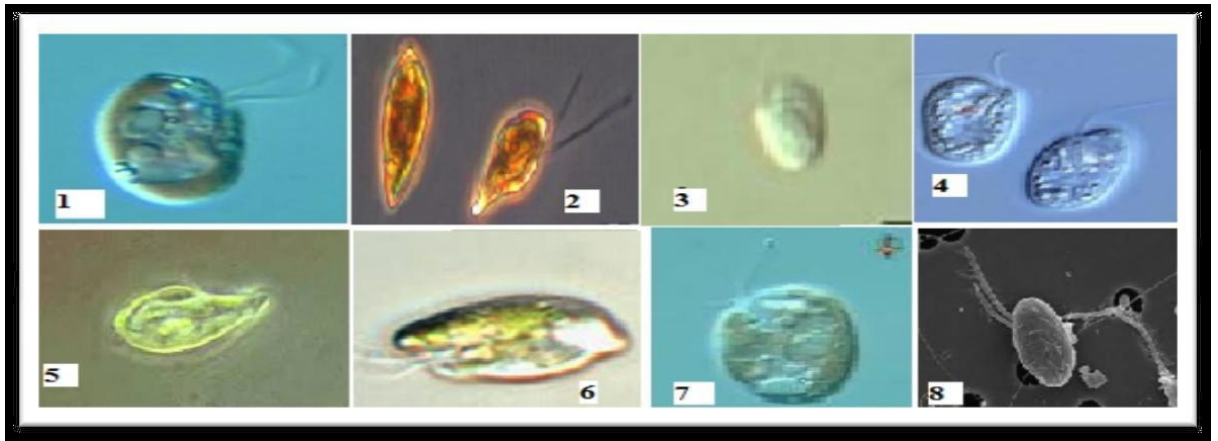


Figure N°12 : exemple des Cryptophyta : 1-*Proteomonas sulcata*, 2- *Teleaulax acuta*, 3- *Goniomonas truncata*, 4-*Chilomonas paramecium*, 5-*Chroomonas marinas*, 6- *pyrenomona salina*, 7- *Rhinomonas sp.*, 8- *Hemiselmis virescens* (Algaebase.org.)

b) Les Dinophycées, ou Péridiniens : Elles sont à fouets dirigés perpendiculairement l'un par rapport à l'autre, l'un longitudinal, l'autre transversal. Elles ont un très gros noyau à structure filamenteuse.

1.2.1.5. Chrysophytes: sont caractérisées par des chromatophores bruns, jaunes ou vert-jaunâtres. Elles ne possèdent jamais d'amidon et ne se colorent pas au contact de l'iode. Il existe de nombreuses formes flagellées possèdent pour la plupart deux fouets inégaux (Ilitis, 1986).



Figure N°13: Chrysophytes (Anonyme02)

C'est un grand groupe d'algues eucaryotes couramment appelées **algues dorées**, trouvées principalement dans l'eau douce. A l'origine, elles regroupaient toutes les formes exceptées les diatomées et les algues brunes multicellulaires, mais depuis elles ont été divisées en divers groupes basés sur la pigmentation et la structure cellulaire. Pour beaucoup de chrysophytes, les parois des cellules sont composées de cellulose avec de grandes quantités de silice. Autrefois classées parmi les plantes, elles contiennent les pigments photosynthétiques de chlorophylle *a* et *c*. Dans certaines conditions, elles se reproduisent de manière sexuée, mais la forme courante de la reproduction est la division cellulaire (**Lando, 2011**). Ce groupe se divise en cinq classes d'après la classification ancienne qui n'est toujours pas stable à ce jour, cela est dû à la diversité morphologique et physiologique des algues, ce dernier groupe se divise en quatre principales classes après la reclassification des Diatomées en un groupe à part :

a) Les Chrysophycées : Elles ont des plastes jaunes ou bruns renfermant des chlorophylles *a* et *c*, du β carotène et divers xanthophylles, ce sont des organismes unicellulaires ou coloniaux, rarement filamenteux. Elles forment souvent des logettes ou kystes siliceux plus ou moins sphériques, percés d'un pore fermé par un bouchon (**Ittis, 1986**).

b) Les Xanthophycées : Elles possèdent des plastes vert-jaunes ou verts à peine jaunâtre où les chlorophylles *a* et *c* sont associées à plusieurs xanthophylles et du β carotène, les pigments bruns étant absents. Leur teinte est souvent très proche de celles des chlorophytes mais l'absence d'amidon permet de séparer facilement ces deux groupes. Plusieurs formes constituent des kystes siliceux, globuleux, formés de deux valves de taille égale ou inégale se séparant à la germination par une ligne équatoriale (**Ittis, 1986**).

c) Les Phéophycées : sont des algues brunes toujours filamenteuses ou thalloïdes, jamais unicellulaires. Elles sont surtout marines et ne sont représentées en eaux douces que par cinq genres et cinq à six espèces fort rares. Elles possèdent des plastes bruns contenant des chlorophylles *a* et *c*, du β carotène et des xanthophylles (surtout la fucoxanthine et la diatoxanthine). Elles ne produisent jamais d'amidon et les matières de réserve consistent en laminarine et en mannitol. La reproduction se fait par des zoosporocystes uni ou pluriloculaires (**Ittis, 1986**).

d) *Les Raphidophycées* : Ce sont toujours des formes unicellulaires, solitaires, nageant à l'aide de deux flagelles de taille inégale. Leurs pigments sont constitués par de la chlorophylle a, du β carotène et trois xanthophylles. Cette classe ne comprend qu'une vingtaine d'espèces d'eau douce.

1.2.1.6. Phaeocystis: C'est un embranchement de la famille des protistes comprenant les organismes couramment appelés les *algues brunes*. Beaucoup d'algues marines sont des membres des Phaeocystis. Comme les chrysophytes, les algues brunes ont leur couleur due à la présence, dans les chloroplastes des cellules, de plusieurs colorants brunâtres de caroténoïde.

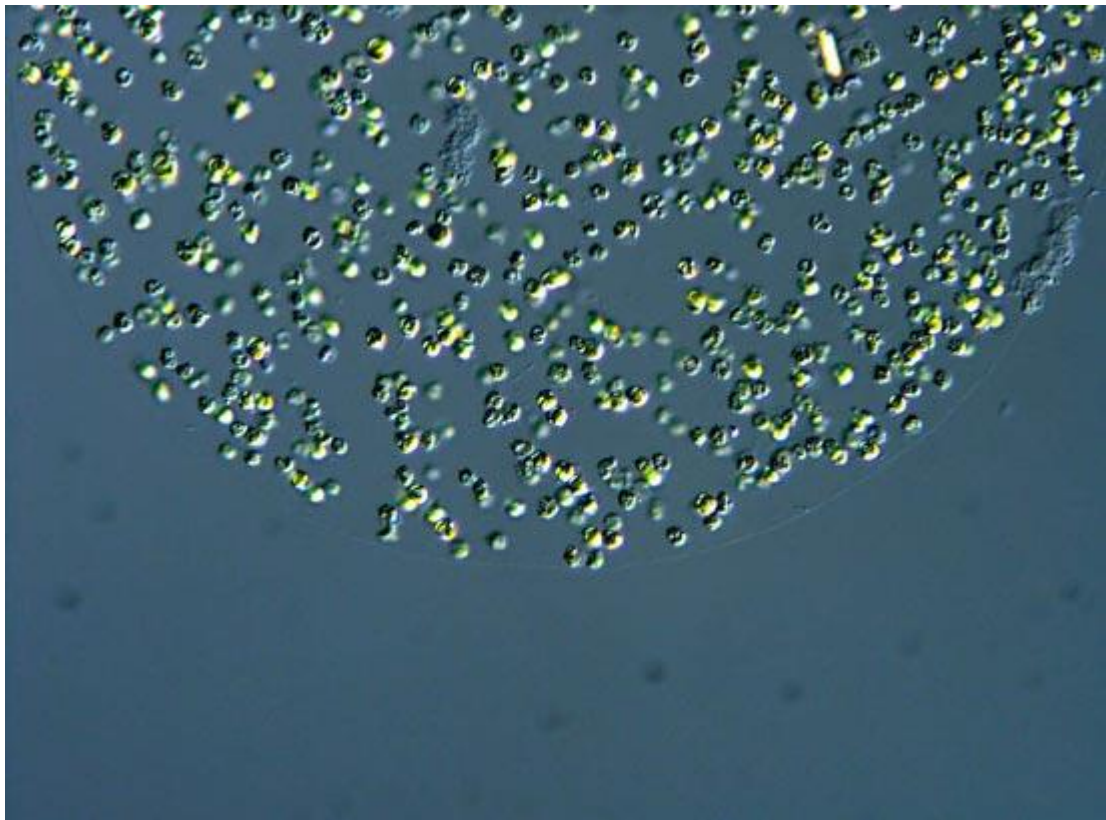


Figure N°14: Phaeocystis Antarctica (Anonyme 02)

Avec seulement de faibles exceptions, les algues brunes sont marines, se développant dans les océans froids du monde, beaucoup dans les zones de marée, où elles sont soumises à un bon stress par l'action des vagues; d'autres se développent dans les eaux profondes. Il existe approximativement 1500 espèces de Phaeocystis.

1.2.1.7. Rhodophytes: sont les plus souvent des algues marines et leur présence dans les eaux douces se limite à une trentaine de genres peu fréquents. Leurs pigments sont constitués par des chlorophylles a et d, des α et β carotènes, des xanthophylles et les biliprotéines (Phycoérythrine et Phycocyanine). Les réserves sont constituées de rhodamylon ou amidon floridéen, amidon particulier toujours extraplastidal prenant une teinte rougeâtre au contact de l'iode. En eau douce, la couleur des Rhodophytes est bleu-verte, rouge-violacée, très souvent vert pale ou vert noirâtre. Il n'existe pas des formes flagellées.

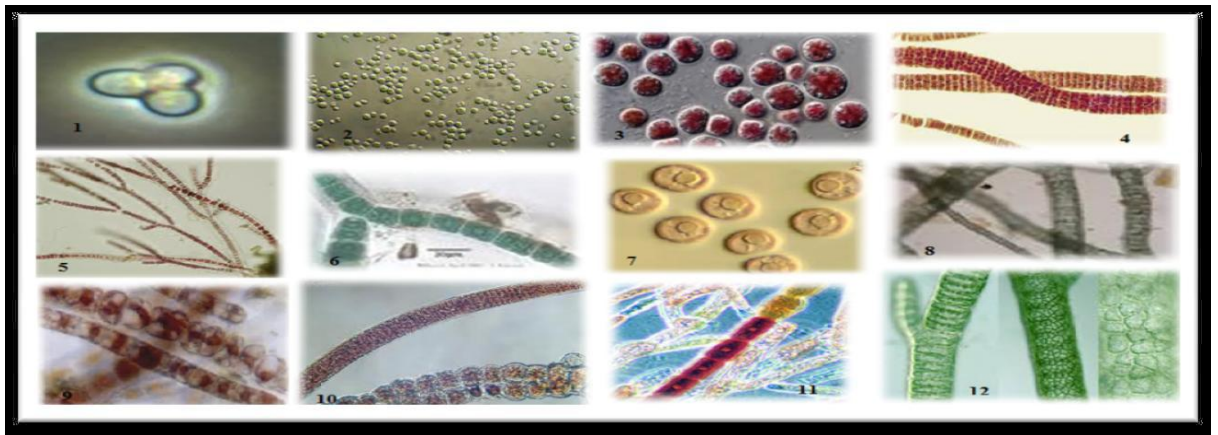


Figure N°15 : exemples des Rhodophytes :1- *cyanidioschyzon merolae*,2-*cyanidium caldarium*,3- *porphyridium cruentum*, 4- *porphyrostromium ciliar*,5-*stylonema alsidii*,6- *chroodactyl onornatum*,7- *Rhodosorus marinus* ,8- *compsopogonopsis sp*, 9- *Erythrotrichia ceramicola*,10- *porphyrostromium ciliar*,11- *rhodochaete parvula*,12- *compsopogon sp*
(Algaebase.org.)



Figure N° 16: Algues rouges ou Rhodophycées (**Anonyme 02**)

C'est un embranchement d'algue de la famille des protistes constitués d'organismes photosynthétiques couramment connus comme les **algues rouges**. Les membres de la division ont une couleur caractéristique rouge claire ou violette due aux pigments protéiques appelés phycobilines. La plupart des algues marines appartiennent à ce groupe. Bien que les algues rouges soient trouvées dans tous les océans, elles sont plus communes dans les climats tropicaux, où elles peuvent se produire à de plus grandes profondeurs que les autres organismes photosynthétiques. La plupart des algues coralliennes, sécrètent du carbonate de calcium et jouent un rôle majeur dans la construction de récifs. Les algues rouges font parties traditionnellement de la cuisine orientale. Il existe 4000 espèces marines connues d'algues rouges; peu d'espèces se produisent dans l'eau douce.

1.2.1.8. Cyanophytes: C'est un embranchement de bactéries aquatiques procaryotes, elles obtiennent leurs énergies par la photosynthèse. Elles sont souvent référées aux **algues vertes**, quoiqu'on sache maintenant qu'elles ne sont liées à aucuns autres groupes d'algues, qui sont tous des eucaryotes. Les cyanobactéries peuvent être de structure cellulaire simple ou colonial. En fonction des espèces et des conditions environnementales, les colonies peuvent former des filaments ou des feuilles. En dépit de leur nom, les différentes espèces peuvent être rouges, brunes ou jaunes; on dit que les fleurs d'eau (masses denses sur la surface des plans d'eau) des espèces rouges donnent à la Mer Rouge son nom. Il existe deux principales sortes de pigmentation. La plupart des cyanobactéries contiennent de la chlorophylle *a*,

ensemble avec divers protéines appelées phycobilines, qui donne aux cellules une couleur typiquement verte à brunâtre.

Quelques genres, cependant, manquent de phycobilines et ont la chlorophylle *b* aussi bien que *a*, leur donnât une couleur vert claire (**Lando, 2011**).

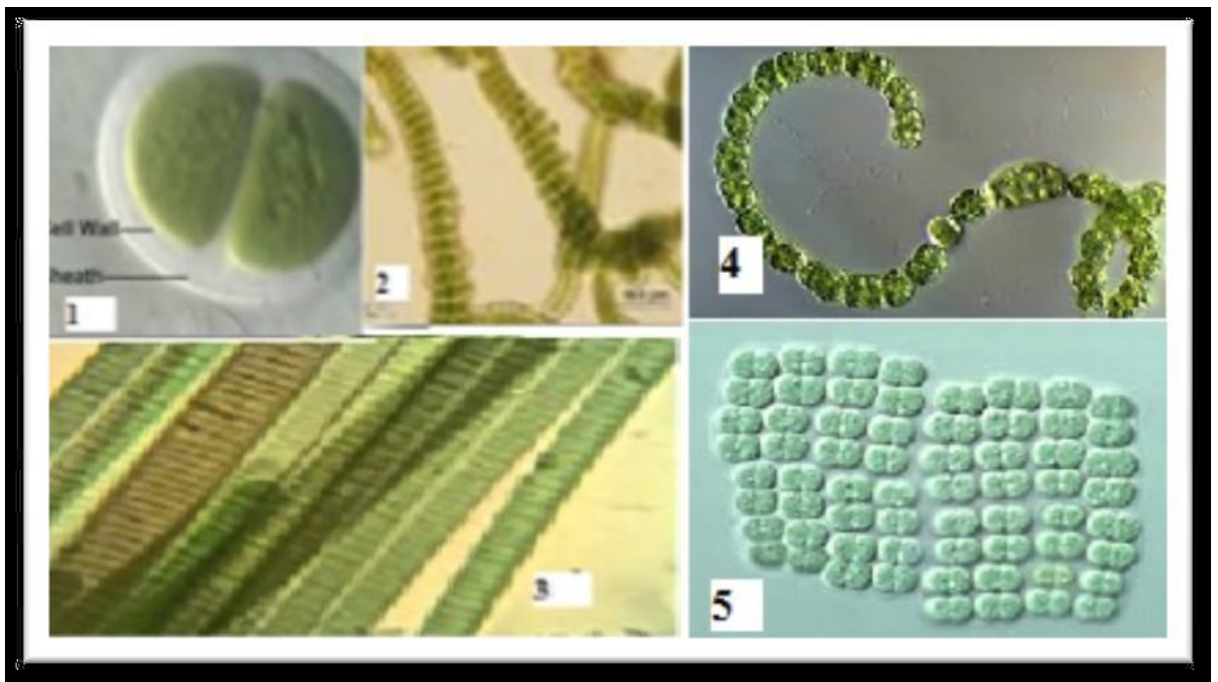


Figure N° 17 : exemple des Cyanophytes 1- *Chroococcus turgidus*,
2- *Stigonema mamillosum* 3- *Oscillatoria margaritifera*, 4- *Anabaena spiroides*,
5- *Merismopedia elegans*. (*Algaebase.org*)

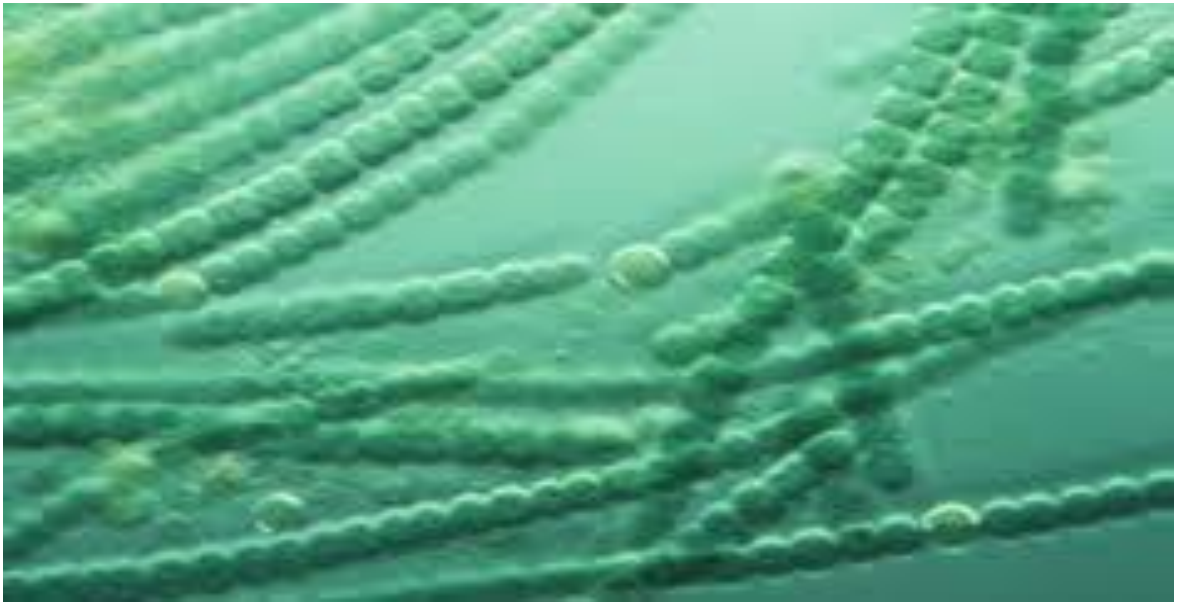


Figure N° 18: Cyanobacterie Anabaena (**Anonyme 02**)

Elles sont dénommées aussi algues bleues ou Schizophytes ou encore Myxophytes, ne possèdent pas de noyau à membrane définie (ce sont des Procaryotes, à l'inverse des autres groupes qui sont des Eucaryotes) ni de chromatophores. Les pigments présents dans la cellule sont nombreux : chlorophylle verte a et c, β carotène et xanthophylles jaunes ou ochracés.

Certaines espèces ne possèdent que de la chlorophylle. Ces pigments ne sont pas portés par des plastes mais sont diffus dans le cytoplasme et donnant aux cellules une coloration homogène. Le mélange caractéristique des cyanophycées mais on rencontre aussi des teintes noirâtres, brunâtres, rouge, bleues ou même violette. Les réserves cellulaires sont constituées par un corps très voisin du glycogène dispersés en particule très petites. Elles prennent une teinte acajou au contact d'une solution iodo-iodurée. Les cyanophytes ne possèdent pas de forme flagellées (**Ilitis, 1986**).

Contrairement aux bactéries, qui sont des décomposeurs hétérotrophes des déchets et des corps d'autres organismes, les cyanobactéries contiennent le pigment vert de la chlorophylle (aussi bien que les autres pigments), qui piège l'énergie solaire et permet à ces organismes de procéder à la photosynthèse. Les cyanobactéries sont ainsi des producteurs auto-trophiques de leur propre nourriture à partir de matières premières simples.

Les cyanobactéries fixant l'azote ont seulement besoin d'azote et de dioxyde de carbone pour vivre: elles sont capables de fixer le gaz d'azote, qui ne peut être absorbé par les plantes, par l'ammoniaque (NH_3), les nitrites (NO_2^-) ou les nitrates (NO_3^-), qui peut être absorbé par les plantes et être converti en protéines et acides nucléiques (**Potin , 2011**).

Elles se trouvent dans presque tous les habitats imaginables, des océans à l'eau douce. Elles produisent les composés responsables des odeurs *terreuses* que nous détectons dans le sol et dans certains plans d'eau. La boue verdâtre sur le côté de vos pots de fleurs, sur le mur de votre maison ou sur le tronc des grands arbres est plus susceptible d'être des cyanobactéries plutôt qu'autre chose. Les cyanobactéries ont même été trouvées sur la fourrure des ours polaires, auxquels elles donnent une teinte verdâtre. En bref, les cyanobactéries n'ont aucun habitat parce que vous pouvez les trouver partout dans le monde.

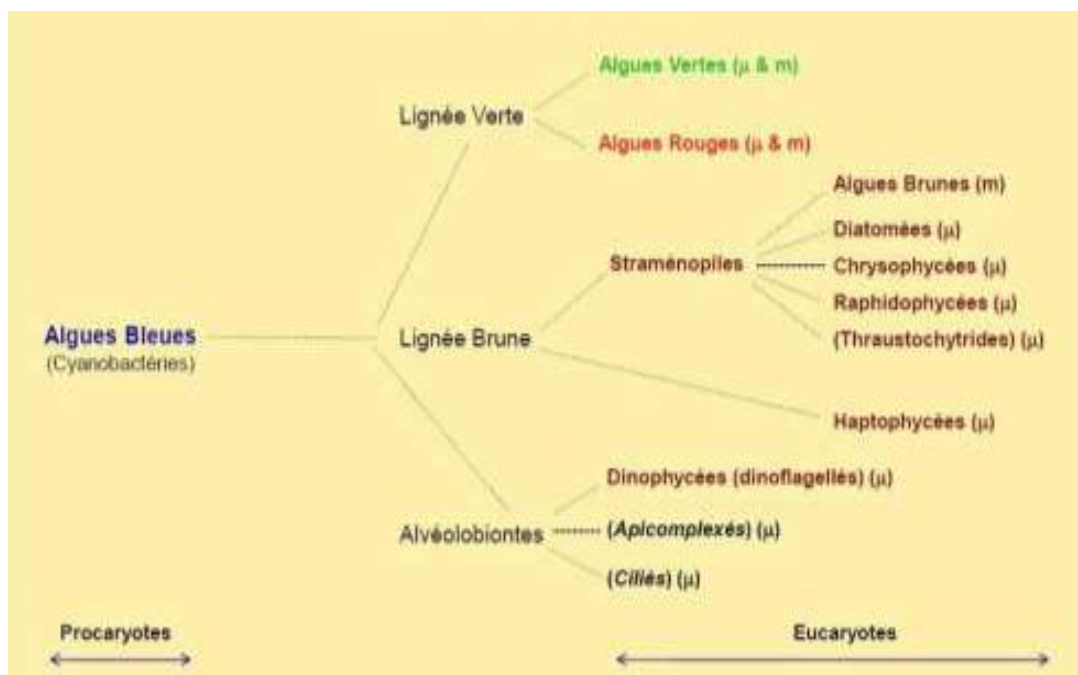


Figure 19 : Phylogénie des algues d'après (J.M. Kornprobst - Université de Nantes - 2006)

I.2. Microalgues

Les microalgues sont des algues microscopiques unicellulaires. Elles peuvent être libres ou en colonie. Leur cellule unique est indifférenciée assure toutes les fonctions. Ce sont des micro-organismes appartenant à deux groupes : les eucaryotes et les procaryotes. Elles

vivent dans les milieux fortement aqueux. Les microalgues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique compartimentée, avec ou sans paroi cellulosique, et, avec des pigments photosynthétiques renfermés dans des plastes. Les microalgues procaryotes, appelées aussi cyanobactéries, ont une structure bactérienne classique sans compartiment, les pigments photosynthétiques étant contenus dans des membranes lamellaires. Elles sont réparties dans différentes familles qui ont chacune leurs propres caractéristiques, mais elles ont aussi des points communs en particulier dans leur ultra structure et leur métabolisme. On utilise le terme «micro» car la taille d'une microalgue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres. Pour les étudier, on doit donc les observer au microscope optique et au microscope électronique ce qui permet de voir plus de détails, en particulier leur morphologie.

Une micro-algüe est un organisme photosynthétique unicellulaire délimitée par une membrane plasmique, qui contient au sein de son cytoplasme de nombreux organites nécessaires à son fonctionnement et à son métabolisme : chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes, mitochondries et son noyau entouré d'une enveloppe.

La distinction faite entre microalgues et macroalgues est très imprécise. On nomme généralement macroalgues les algues dont l'appareil végétatif est clairement visible à l'œil nu.

Les rivulaires (masses plus ou moins sphériques, bleu-vert) ou les nostocs (plus ou moins en lames brunâtres) sont ainsi souvent incluses dans les inventaires de macroalgues alors que ce qui est distingué à l'œil nu n'est qu'une masse gélatineuse élaborée par des cyanobactéries filamenteuses microscopiques. En revanche, on parlera, à juste titre, de microalgues pour désigner une tâche colorée sur de la vase, parfaitement visible à l'œil nu mais révélatrice d'une grande quantité d'unicellulaires à la surface du sédiment, ou une petite masse gélatineuse contenant des cellules (**Anonyme 04**)

Les algues désignent un ensemble d'organismes que l'on retrouve préférentiellement dans les milieux aquatiques. Elles rassemblent à la fois les macroalgues benthiques (fixées sur un support) ainsi que des organismes microscopiques pélagiques (en eau libre, du fond à la surface) : les microalgues. Ces dernières, dénommées également phytoplancton, sont définies comme étant des organismes unicellulaires ou pluricellulaires indifférenciés. Sous cette désignation, elles constituent un sous-ordre des Eucaryotes ou des Procaryotes. Dans ce

dernier règne, les représentants des microalgues sont regroupés dans la sous-classe des Cyanobactéries (**Sialve et Steyer, 2013**).

Les micro-algues utilisées depuis longtemps comme source alimentaire au Tchad ou en Amérique latine (la Spiruline est en fait une cyanobactérie souvent assimilée à une micro-algue), ne sont cultivées et exploitées industriellement que depuis quelques dizaines d'années. Leur développement s'est fait en parallèle à celui de l'aquaculture de poissons et de coquillages bivalves. Leur usage principal est en effet de nourrir les larves d'aquaculture. Elles sont aussi cultivées pour produire du bêta-carotène ainsi que différentes autres molécules d'intérêt pour l'alimentation humaine, la cosmétique, la pharmacie. Leur usage à des fins énergétiques n'a été envisagé que depuis les années 1980, suite au premier choc pétrolier, et ce n'est que récemment qu'elles ont attiré à nouveau l'attention de la recherche et de l'industrie comme source de biocarburant, notamment pour l'aviation.

En effet, la quantité de lipides qu'elles contiennent les prédispose à ce type d'usage, tout comme leur richesse en protéines et en acides gras polyinsaturés (oméga 3) en font de bonnes candidates pour l'alimentation aquacole (**Mathieu, 2011**).

Mais, aujourd'hui, le pas important à franchir reste celui de leur exploitation à grande échelle afin qu'elles puissent jouer un rôle significatif sur le marché mondial dans les années à venir. Là est tout l'enjeu des travaux en cours dont ce rapport permettra de mieux appréhender les enjeux et les défis qui restent à lever (**Julie, 2011-Mathieu, 2011**).

Principaux composants du phytoplancton, les micro-algues (en incluant les cyanobactéries) sont des êtres photosynthétiques unicellulaires peuplant les océans et cours d'eau depuis plus de trois milliards et demi d'années (**Gandolfo, 2011**).

La consommation des algues remonterait à des millénaires. Les scientifiques ont découvert que le phytoplancton était consommé au Mexique depuis le temps des aztèques et que les tchadiens consomment la spiruline séchée depuis plusieurs décennies (**Julie, 2011**).

En Europe, c'est dans un contexte de pénurie alimentaire que les chercheurs ont commencé à s'intéresser aux algues microscopiques en tant qu'aliment ou complément alimentaire, dès 1940 : leurs teneurs en protéines auraient permis de palier les problèmes de

malnutrition. La première installation industrielle de culture de chlorelle, développée pour l'alimentation des proies utilisées pour l'alimentation des juvéniles de poissons d'élevage, a vu le jour dans les années 1960, au Japon (**Julie, 2011**).

La courbe de croissance de la production mondiale des micro-algues entre 1975 et 2000 est exponentielle passant de moins de 5 tonnes à 3 500 tonnes. En 2004, la production mondiale de micro-algues toutes espèces confondues était estimée entre 7 000 et 10 000 tonnes de matière sèche, pour une valeur marchande globale de plus de 4,5 milliards de dollars, 276 entreprises étaient alors référencées dans ce domaine à l'échelle mondiale, un tiers d'entre elles produisant essentiellement les trois espèces dominantes : *Spirulina*, *Chlorella* et *Dunaliella* (**Julie, 2011**).

Aujourd'hui, avec seulement quelques dizaines d'espèces de micro-algues cultivées, la production mondiale plafonne à 10 000 tonnes chaque année. Cette valeur reste négligeable en comparaison à celle de la production mondiale de macro-algues (15 millions de tonnes).

Les espèces de micro-algues les plus cultivées sont par ordre décroissant : la cyanobactérie *Arthrospira* (la spiruline, qui représenterait 50% de la production mondiale), suivie par les microalgues vertes *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Nannochloropsis* et la diatomée *Odontella* (**Legrand, 2011**).

L'Asie est le premier producteur de micro-algues au monde, et représente à elle seule environ 50% de la production mondiale. Les principaux autres pays producteurs sont les USA, le Chili, l'Argentine, Israël, l'Australie. En Europe, l'Allemagne et les Pays-Bas sont les premiers producteurs avec environ 50 tonnes chaque année.

La France quant à elle, a développé les premières unités de production de micro-algues plus tardivement – à la fin des années 80 – et l'on dénombre aujourd'hui une trentaine de sites de production sur le territoire et pour une production d'environ 10 à 15 tonnes par an (**Julie, 2011**).

De manière générale, en dehors de quelques espèces, les micro-algues n'ont pas encore atteint leur niveau de maturité industrielle. Des problématiques de constance de qualité

et de coût de production se posent encore, ce qui limite leur accès à certains marchés (**Gandolfo, 2011**).

I.2.1. Diversité de familles et d'espèces des micro-algues

Peuplant les eaux douces comme marines, les micro-algues présentent une diversité plus grande que celle de toutes les plantes terrestres. Il existerait sur le globe au moins 200000 espèces différentes. Certains auteurs avancent même des chiffres supérieurs à un million d'espèces. Ces organismes constituent un groupe polyphylétique et très diversifié de procaryotes (les algues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (où l'on retrouve les algues vertes, rouges et brunes). Le classement en divisions est basé sur diverses propriétés telles que la pigmentation, la nature chimique des produits de stockage issus de la photosynthèse, l'organisation des membranes photosynthétiques et d'autres caractéristiques morphologiques.

Les algues rouges et vertes appartiendraient à une même famille (Plantae) et seraient apparues il y a deux milliards d'années. Les algues brunes et les diatomées seraient issues d'une association d'une micro-algue rouge et d'un organisme unicellulaire hétérotrophe, apparues il y a un milliard d'années elles forment la famille des Chromalvéolates. À noter que certains travaux rapprochent les algues rouges des algues brunes en prenant en considération des marqueurs biogénétiques différents (**Julie, 2011**).

Les microalgues constituent un groupe extrêmement hétérogène rassemblé autour d'une cohérence physiologique : la photosynthèse oxygénique (**Andersen, 1992**).

Cette famille rassemblerait de plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions d'espèces selon les estimations, parmi lesquelles 47000 espèces sont décrites (**Andersen et al, 1997 ; Sharma and Rai, 2011**).

Par comparaison, la diversité des plantes supérieures est de l'ordre de 400 000 espèces. La classification de cette diversité est complexe et la taxonomie est sujette à de fréquents bouleversements du fait notamment de l'utilisation des techniques de phylogénie moléculaire (**Sialve et Steyer, 2013**).

Les cyanobactéries sont des algues bleues procaryotes dont la principale espèce cultivée est la spiruline. Apparues il y a environ 3,8 milliards d'années elles auraient permis la production d'oxygène dans l'atmosphère en réalisant la photosynthèse. Leurs cellules ont une structure procaryote typique des bactéries. La photosynthèse se produit directement dans le cytoplasme (**Julie, 2011**). Elles seraient à l'origine des chloroplastes des cellules eucaryotes, et auraient ainsi permis aux végétaux de réaliser la photosynthèse, à la suite d'une endosymbiose (**Ghagvardieff, 2011**).

Chez les micro-algues eucaryotes la photosynthèse se produit dans des structures particulières, entourées d'une double membrane plastidiale, qu'on appelle chloroplastes. Ces organites cellulaires contiennent de l'ADN et sont similaires aux cyanobactéries validant l'hypothèse de l'endosymbiose (**Julie, 2011**) (**Deslandes, 2011**).

1.3. Les algues et les plantes aquatiques

Les biologistes distinguent clairement les algues des plantes aquatiques; la plus part confondent ces notions. Établissons ici les définitions.

1.3.1. Algue: toutes plantes aquatiques, était la définition ancienne. Aujourd'hui: organisme Eucaryotes possédant la chlorophylle α et faisant la photosynthèse oxygénique. Ne possède pas de système vasculaire. Possède des structures de reproductions simples.

Végétal primitif non vasculaire retrouvé en milieu aquatique ou humide. Les algues sont plus évoluées que les cyanobactéries. La plupart des algues sont microscopiques. Certaines sont macroscopiques, donc visibles à l'oeil nu (**Anonyme, 05**).

Les algues sont des êtres vivants capables de photosynthèse dont le cycle de vie se déroule généralement en milieu aquatique. Elles constituent une part très importante de la biodiversité et la base principale des chaînes alimentaires des eaux douces, saumâtres et marines. Diverses espèces sont utilisées pour l'alimentation humaine, l'agriculture ou l'industrie.

Les algues ne constituent pas un groupe évolutif unique, mais désignent toute une série d'organismes pouvant appartenir à des groupes phylogénétiques très différents.

1.3.2. Plante aquatique : végétal très évolué composé de feuilles (ou de thalles), généralement de tiges ainsi que de racines. Ces structures comprennent des vaisseaux. Ces derniers ont l'apparence de nervures au niveau des feuilles. Ils servent à transporter l'eau et les sels minéraux nécessaires à la croissance de la plante. En raison de leurs vaisseaux, les plantes aquatiques sont des macrophytes vasculaires (**Anonyme, 05**).

Elles sont aussi désignées 'plantes aquatiques vasculaires, macrophytes vasculaires, macrophytes aquatiques, macrophytes et hydrophytes.

Une plante aquatique est composée d'organes comme des feuilles vertes, des tiges et des racines ayant des dimensions et des formes différentes selon les espèces (**Anonyme, 05**).

D'autres espèces sont constituées de thalles et de racines. Les thalles ressemblent à un groupe, de minuscules feuilles vertes, sous lequel pendent de petites racines (**Anonyme, 05**).

Les racines, tiges, feuilles et thalles incluent des vaisseaux pour la circulation de l'eau et des sels minéraux. Au niveau des feuilles ou de certains thalles, ces vaisseaux ressemblent à des nervures. Vues de loin, les plantes aquatiques composées de thalles s'apparentent à des « particules flottantes ».

Lorsqu'elles sont regroupées dans un même secteur, les plantes aquatiques qui flottent créent des «tapis flottants» et celles qui sont enracinées forment des herbiers (**Anonyme, 05**).

Certaines plantes vivent en surface (flottantes), d'autres sont enracinées dans le substrat. Parmi celles-ci, certaines occupent une portion de la colonne d'eau (enracinées et immergées) ou parviennent jusqu'à la surface (enracinées et flottantes). Les espèces enracinées poussent surtout en zone littorale peu profonde. Les plantes aquatiques se trouvent naturellement dans des zones à courant nul ou faible (**Anonyme,05**)

Retenons ainsi que les algues sont pour la plus part microscopiques, alors que, ce que nous observons au fond du lac sont des plantes aquatiques.

1.3.3. Les algues filamenteuses : elles sont aussi désignées 'macrophytes non vasculaires'. Ce sont des filaments minces, fragiles et verts. Certains d'entre eux ressemblent à des cheveux mêlés flottant à la surface de l'eau. D'autres, qui sont accrochés à un substrat,

semblent s'étirer vers l'aval à cause du courant. Les filaments s'allongent au fur et à mesure que la saison estivale avance.

Certaines algues filamenteuses flottent à la surface. D'autres sont fixées sur un substrat dur comme des roches, du ciment ou une bûche de bois.

Les algues filamenteuses flottantes se voient surtout dans des milieux à courant nul ou faible. Cependant, celles qui sont fixées sur un substrat croissent aussi dans des milieux à courant assez rapide. Ce type d'algue, y compris chaque individu, est visible à l'oeil nu (**Anonyme, 05**).

1.3.4. Le Périphyton : Il ressemble à un amas souvent verdâtre et visqueux ayant une apparence mousseuse, recouvrant en partie ou en totalité des plantes aquatiques, du bois, des roches ou d'autres surfaces inertes. Les algues du périphyton ne poussent pas en longueur contrairement aux algues filamenteuses (**Anonyme, 05**).

Lorsque le périphyton est recouvert de fines matières organiques ou de sédiments, il peut être d'une couleur brunâtre. Lorsqu'il est mort et séché, il peut avoir l'aspect du papier (**Anonyme, 05**).

1.3.5. Charra: La plante connue sous le nom de «charra» est observée en eau peu profonde; elle croit rapidement, et forme un tapis sur le fond (**Anonyme,05**)

I.4. Physiologie

Dans l'ensemble, les cellules des algues présentent tous les caractères communs aux cellules eucaryotes. Elles possèdent généralement un noyau unique, mais le cytoplasme d'une forme filamenteuse comme *Vaucheria* en contient plusieurs. Quelques algues unicellulaires sont capables de mouvements amiboïdes tandis que d'autres disposent d'un ou de plusieurs flagelles pour se déplacer. Chez les diatomées, les mouvements sont liés à une sortie de l'eau par des orifices de la membrane.

Les plastes sont des organites qui renferment des pigments de nature et de couleur variables dont le rôle est de capter l'énergie lumineuse au cours du processus de

photosynthèse. Le pigment vert est la chlorophylle, le brun la fucoxanthine, le rouge la phycoérythrine.

I.5. Ecologie

Les algues assurent plus de la moitié de toute la photosynthèse de la terre et sont à la base de toutes les chaînes alimentaires aquatiques. Les algues brunes, majoritaires dans le varech, sont utilisées comme engrais, car elles sont riches en iode, en potasse et en soude. Certaines algues offrent un intérêt thérapeutique ou pour la fabrication de produits cosmétiques (mucilages, notamment). Enfin, la thalassothérapie recourt aux algues pour des bains ou des massages corporels.

Plusieurs espèces de micro-algues sont capables de passer d'une croissance photoautotrophe (grâce à de la lumière qui fournit l'énergie pour convertir le CO₂ en chaînes carbonées) à une croissance hétérotrophe (sans lumière) utilisant le glucose ou d'autres substrats carbonés utilisables pour le métabolisme du carbone et de l'énergie. Certaines algues peuvent également se développer par mixotrophie en combinant les deux modes (**Julie, 2011**)

I.6. Habitat

Les algues sont surtout des plantes aquatiques, d'eau douce ou d'eau salée, voire de milieu humide. Elles sont tout particulièrement bien représentées dans les régions côtières. Lorsque la mer se retire, les zones les plus hautes de la grève montrent, accrochées à leurs rochers, des algues de couleur verte. *Ulva lactuca* avec ses éléments ressemblant à des feuilles de laitue est une des plus communes, apparaissent ensuite les algues brunes, plus tardivement découvertes par la mer. C'est la zone de développement des *Fucus*.

Au niveau inférieur, seulement découvert lors des grandes marées d'équinoxe, on trouve encore des algues brunes mais du type laminaire. Peu à peu, jusqu'à une profondeur de 50 m, des algues rouges vont se substituer aux algues brunes.

I.7. Reproduction

Les micro-algues présentent l'avantage d'avoir un cycle de division très court, de l'ordre de quelques heures, permettant la production rapide de biomasse (plusieurs grammes de matière sèche par litre) (**Julie, 2011**).

La reproduction des algues fait appel, comme chez tous les végétaux, à des spores et à des gamètes, mais selon des cycles variés et parfois complexes.

Leur développement fait intervenir plusieurs facteurs de croissance et conditions de culture comme : l'eau, les nutriments, la lumière, le CO₂, la température et le pH de la culture, ainsi que l'agitation. En fonction des souches cultivées l'eau est douce, marine ou saumâtre (**Julie, 2011**).

L'apport en eau et sa qualité vont conditionner et influencer la culture des algues. Pour une croissance optimale en photobioréacteurs, il est souvent nécessaire de débiter la culture dans une eau stérile dépourvue de tout autre micro-organisme ou molécule pouvant inhiber ou concurrencer la croissance des algues, ou au moins ensemercer avec une quantité significative de biomasse (**Julie, 2011**).

Les nutriments nécessaires à la croissance des algues varient en fonction du mode trophique, de la souche cultivée et de la source d'eau choisie.

Dans le mode autotrophe, les micro-algues sont capables d'utiliser des formes minérales azotées (nitrate, nitrite, ammonium), et phosphatées (phosphate). Quel que soit le mode de croissance, les algues nécessitent également du potassium, du fer et de la silice (pour les diatomées), du soufre, des métaux sous forme de traces, et des vitamines.

Il est à noter que certaines carences en nutriments sont appliquées volontairement dans le but de stimuler la production de certains métabolites. Par exemple, une carence azotée, phosphorée ou siliciée peut induire, chez certaines espèces, une forte accumulation de lipides.

Pour le mode hétérotrophe, une source de carbone organique est utilisée (sucres, acides organiques, glycérol, etc.) (**Laura, 2011**).

Comme pour tout végétal chlorophyllien, la photosynthèse permet de fixer le dioxyde de carbone atmosphérique ou dissous dans l'eau à partir de l'énergie lumineuse pour produire de la biomasse. Les algues utilisent différents pigments chlorophylliens leur permettant de capter des photons de diverses longueurs d'onde (**Julie, 2011**).

En fonction des applications et des superficies de culture, la lumière naturelle (solaire) est utilisée ou bien les algues sont éclairées par une source lumineuse artificielle (néons,...).

La température, le pH, le carbone inorganique dissous et le taux d'homogénéisation de la culture sont des facteurs importants pour la culture. En effet, en fonction de la souche cultivée, il existe des gammes pour ces paramètres garantissant une croissance optimale. Les performances de la culture peuvent être significativement dégradées loin de ces conditions optimales (**Boyen, 2011**).

Parmi les facteurs limitant la croissance il y a l'accumulation d'oxygène dans le milieu produit par la photosynthèse en système clos.

Il faut par ailleurs veiller aux risques de contamination par d'autres microorganismes dont la croissance plus rapide pourrait l'emporter sur les souches recherchées, ou bien par des prédateurs qui peuvent rapidement consommer la biomasse. Des virus peuvent également être responsables de dysfonctionnements des procédés de culture. Ce problème est en grande partie résolu pour les algues croissant en milieu extrêmophile, comme les eaux hyper-salées (telle que *Dunaliella salina*) ou hyper alcalines (telle que la spiruline) qui limitent la croissance des prédateurs et des microorganismes concurrents (**Sassi, 2011**).

I.8. Utilisation, exploitation et valorisation des algues

Concernant la valorisation de cette immense richesse, elle n'en est qu'à ses balbutiements. En effet, bien que certaines macro-algues soient exploitées depuis l'antiquité dans la plupart des pays maritimes, notamment dans les pays d'extrême orient, leur exploitation à l'échelle mondiale reste marginale par rapport à la production végétale terrestre : 15 millions de tonnes de macro-algues (dont 13,5 Mt de culture) et 7 à 10 000 tonnes de micro-algues (100% en culture), contre 4 milliards de tonnes pour la production agricole.

La France, et l'Europe sont aujourd'hui en retard face aux pays asiatiques qui ont eux développé des techniques de production leur permettant aujourd'hui de satisfaire leurs besoins qui sont énormes, notamment en termes de consommation alimentaire. Mais leur production permet également de pouvoir exporter de la matière première dans le monde entier (**Findeling, 2011**).

Les micro-algues quand à elles ne pèsent aujourd'hui que 10 mille tonnes par an en culture contrôlée, c'est-à-dire en dehors des micro-algues utilisées pour le traitement des eaux résiduaires. Cette faible exploitation quantitative des algues, comparativement à la ressource potentiellement disponible en France, s'explique principalement par le manque de maturité industrielle d'une filière qui est en émergence. Elles jouent cependant un rôle important dans le domaine de l'agroalimentaire en fournissant des gélifiants comme les carraghénanes et les alginates, qui n'ont pas d'équivalents d'origine terrestre. Leur utilisation dans le domaine de la cosmétique et de la chimie est en plein essor, indiquant un renouveau dans leur valorisation à l'échelle industrielle (**Mathieu, 2011**).

1.8.1. Composition biochimique

Les micro-algues présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules. Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, en protéines, en vitamines, en pigments et en antioxydants. Elles représentent une source importante de quasi toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1, et possèdent un large panel de pigments, fluorescents ou non, pouvant aussi avoir un rôle d'antioxydants. En plus de la chlorophylle (0,5 à 1% de la matière sèche) qui est le pigment photosynthétique primaire chez toutes les algues photosynthétiques, on trouve toute une gamme de pigments supplémentaires de type caroténoïdes (0,1 à 0,2% de la matière sèche) et phycobiliprotéines (phycoérythrine et phycocyanine) (**Findeling, 2011**).

Les pigments principalement exploités sont la phycocyanine de la spiruline (colorant bleu), la phycoérythrine (couleur rouge) de *Porphyridium purpureum*, l'astaxanthine d'*Haematococcus pluvialis* ou le bêta-carotène de *Dunaliella salina*.

Les micro-algues peuvent accumuler plus de 50% de leur poids sec en lipides. Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides. Ces lipides contiennent des acides gras saturés et polyinsaturés (AGPI) comme les oméga-3 : ALA, EPA, DHA, ou les oméga-6 : ARA (**Julie, 2011**).

Le contenu élevé en protéines, peptides et acides aminés (entre 12 et 65% de matière sèche) de plusieurs espèces de micro-algues est une des principales raisons pour les

considérer comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale (pisciculture) (**Sassi, 2011**).

Certaines espèces présentent aussi une richesse en oligosaccharides et polysaccharides, d'autres encore peuvent produire des molécules à activité antivirales, antibiotiques, ou antiprolifératrices chez l'homme.

Beaucoup de molécules restent probablement encore à découvrir et font l'objet de recherches dans beaucoup de laboratoires à travers le monde (**Lepine, 2011**).

1.8.2. Production de la biomasse

La production de la biomasse algale a évolué au cours du temps, sur le territoire français les premiers producteurs d'algues sont apparus avec les premières écloseries à fin des années 1970 (**Laura, 2011**). Les micro-algues étaient alors produites à ciel ouvert le plus souvent dans des bassins en mode discontinu et en conditions semi-contrôlées.

Depuis, les techniques de production ont évolué pour arriver aujourd'hui à des productions en mode continu et contrôlé en photobioréacteurs ; les systèmes ouverts ayant également bénéficié d'optimisation et d'automatisation des cultures (**Deslandes, 2011**).

Dans certains cas, micro- et macro-algues sont cultivées conjointement, dans des conditions symbiotiques qui bénéficient aux deux productions (par exemple, cas d'*Odontella* et de *Chondrus* co-cultivés dans les mêmes raceways chez Innovalg (**Julie, 2011**).

Les micro-algues et cyanobactéries peuvent être cultivées en photoautotrophie, en systèmes ouverts ou fermés qui peuvent être de tailles et de géométries variées et utiliser la lumière solaire et/ou artificielle, ou par hétérotrophie, bien connue et maîtrisée depuis des années pour la culture des bactéries (**Boyen, 2011**).

1.9. La filière microalgale

1.9.1. Une histoire récente

La culture d'algue en laboratoire n'a pas plus de 150 ans et son application commerciale se concentre sur les 60 dernières années. En 1942 pour subvenir aux besoins

particuliers en temps de guerre, Harder et von Witsch (article non disponible en anglais) ont mis en évidence le pouvoir de production de lipides par les microalgues (**Borowitzka, 2013**).

On peut toutefois considérer que les recherches sur « l'algue énergétique » n'ont commencé qu'en 1955 avec les travaux de Meier (**Meier, 1955**). Par la suite, l'avènement du pétrole a fortement ralenti la dynamique de recherche et ce n'est que dans les années 1970, durant les chocs pétroliers, que la production de biocarburants à partir de lipides fut véritablement envisagée et que les recherches sur la production d'hydrogène furent relancées au Japon, aux USA et en Europe. Entre temps, les recherches dans le secteur se sont focalisées principalement sur la production de microalgues agroalimentaires, sur leur efficacité à capter la lumière et sur l'utilisation de ces dernières dans le traitement des eaux avec de nombreux travaux d'Oswald, Golueke et Shelef notamment .

La production commerciale de microalgues est apparue au Japon dans les années 60 avec le développement de la filière *Chlorella*, pour les compléments alimentaires et la nutraceutique. Cette filière s'est étendue en Chine et dans d'autres pays asiatiques dans les années 70. La filière Spiruline (*Arthrospira*) s'est aussi développée dans les années 70-80 depuis le Mexique, les USA, la Thaïlande notamment et à partir des années 90 en Chine (**Borowitzka, 2013**).

En ce qui concerne *Dunaliella salina*, les premières cultures extérieures à grande échelle ont été conduites en Ukraine sous la direction de Massyuk dans les années 60 (**Massyuk, 1965**). Elle fut la troisième algue à connaître un développement commercial, à partir des années 80, en Israël, en Australie et aux USA, pour sa capacité à produire du β -carotène.

À partir des années 90, l'algue d'eau douce, *Haematococcus pluvialis*, a aussi été produite pour sa capacité à générer des caroténoïdes et notamment de l'astaxanthine. La culture hétérotrophique de *Cryptocodinium cohnii* s'est aussi développée pour la production d'acide eicosapentaénoïque. En ce qui concerne *Botryococcus braunii*, sa capacité à produire des longues chaînes d'hydrocarbures similaires aux carburants fossiles lui confère un grand intérêt dans les années 80, mais son développement commercial est toujours limité par sa faible vitesse de croissance.

De très gros programmes de recherche, « Algae Species Programme » aux USA et « Research Institute of Innovative Technology for the Earth (RITE) biological CO₂ fixation programme » au Japon ont alimenté la dynamique de recherche dans les années 80 et 90. Le premier programme a notamment conclu sur la nécessité d'intégrer la production énergétique à partir de microalgues au traitement des eaux usées (**Sheehan, 1998**). Le second a entre autres démontré que les algues pouvaient utiliser du CO₂ non traité en sortie d'usine (**Negoro et al., 1992**).

L'effort de recherches n'est pas stoppé avec la fin de ces programmes. Au contraire, la production scientifique (brevets et publications) sur le thème des microalgues a doublé entre 1998 et 2008. Il faut noter que 77% des brevets déposés sont d'origine asiatique (données issues d'un benchmark réalisé en 2009 par TecKowMetrix pour Algasud). Ceci traduit bien la dynamique de recherche actuelle autour des microalgues. Une dynamique qui fluctue et se recentre en fonction des priorités économiques et politiques du moment.

1.9.2. Une ressource naturelle durable et diversifiée

Les algues sont les seuls légumes qui ne nécessitent pas d'irrigation à base d'eau douce, ce qui en terme de bilan environnemental peut s'avérer très intéressant selon le lieu de culture. Elles peuvent se développer pour la plupart dans des eaux non potables du type eaux de mer, eaux hyper salines ou eaux usées (**Cheng & Ogden, 2011**). Elles ne nécessitent pas non plus l'utilisation de surfaces désignées «cultivables» (**Dragone et al., 2010**) ce qui rend leur utilisation par d'autres secteurs que celui de l'agro-alimentaire socialement convenable.

Il existe une très grande biodiversité micro-algale. Le nombre d'espèces de microalgues estimé est compris entre 200000 et plusieurs millions (**Cadoret & Bernard, 2008**). Comparativement, on recense environ 250000 espèces de végétaux supérieurs. Cette biodiversité permet l'utilisation des microalgues dans des secteurs aussi variés que l'énergétique (**Demirbas, 2010**), l'agroalimentaire (**Becker, 2007**), la nutraceutique, la cosmétique, la pharmaceutique (**Rosenberg et al., 2008**), ... Aujourd'hui, seule une trentaine d'espèces de microalgues sont exploitées industriellement.

1.9.3. Une capacité à fixer le carbone inorganique

Il existe 4 principaux types de conditions de cultures pour les microalgues : photoautotrophie, hétérotrophie, mixotrophie et photohétérotrophie (**Chojnacka, 2004**). La photoautotrophie est la capacité à produire de la matière organique à partir de la réduction de matière inorganique et d'une source d'énergie externe, en l'occurrence, de la lumière.

L'hétérotrophie est la capacité à produire de la matière organique, uniquement à partir de sources de carbone organique. La mixotrophie caractérise les organismes capables de se nourrir soit par autotrophie, soit par hétérotrophie ou soit par les deux modes trophiques simultanément. La photo-hétérotrophie caractérise certains organismes capables de combiner comme sources d'énergie, la lumière et des molécules organiques. Seule la culture photoautotrophique sera considérée dans la suite de ce manuscrit. C'est le moyen de culture le plus commun des microalgues, car il permet notamment de réduire les problèmes de contamination de culture (**Chen et al., 2011**). Dans ces conditions, l'algue utilise l'énergie lumineuse et le carbone inorganique (principalement CO_2 et bicarbonate) pour produire l'énergie chimique nécessaire à son développement (**Huang et al., 2010**). La production d'un kilogramme de biomasse entraîne la fixation moyenne de 1,8 kg de CO_2 (**Chisti, 2007**). Cette capacité à fixer le carbone inorganique permet d'expliquer l'intérêt croissant porté par de nombreux industriels aux microalgues dans un contexte de marché du carbone.

Cet intérêt est croissant mais n'est pas nouveau, **Benemann (1997)** notamment a étudié la possibilité de produire des biocarburants à partir d'algues cultivées dans de grands bassins alimentés en CO_2 anthropique dans l'objectif premier de traiter ce CO_2 . Les besoins de larges espaces, de climat extrêmement favorable et d'eau réduisaient selon lui à l'époque le potentiel d'une technologie de fixation du CO_2 en sortie d'usine par les microalgues. Il arguait que la rentabilité pouvait être plus rapidement atteinte en couplant la fixation du CO_2 avec un traitement des eaux usées par les microalgues.

Il faut préciser que les microalgues fixent le carbone mais ne le piègent pas. Le carbone capté lors de la photosynthèse est, en conditions normales, rejeté lors de la combustion du carburant produit par exemple (**Jorquera et al., 2010**). Les microalgues peuvent permettre de réduire l'extraction du carbone de cycle long, mais ne permettent pas à court terme de le réinjecter dans ce dernier. De plus, il est nécessaire d'éviter la décomposition anaérobie des algues pour ne pas produire de méthane, qui de par son fort PRG

(Pouvoir de Réchauffement Global), amputerait fortement le bilan carbone de la filière s'il n'était pas capté.

1.9.4. Un rendement photosynthétique, des taux de croissance et des productivités élevés

Comparativement aux végétaux supérieurs, les microalgues ont de très forts taux de croissance, ce qui permet d'envisager de très fortes productivités à l'hectare. Les scientifiques annoncent, selon les algues et leurs conditions de culture, des taux de croissance de 10 à 100 fois plus importants que ceux constatés pour les végétaux supérieurs. Certaines espèces suivent des temps de doublement de leur population de 4,3 heures dans des conditions optimales. En extérieur, on trouve des algues capables de doubler leur population plus de 2 fois par jour (**Sheehan, 1998**).

Ces taux de croissance sont la conséquence du rendement photosynthétique très élevé rencontré chez les microalgues. Ceci traduit le fait qu'elles captent et stockent de manière efficace l'énergie lumineuse incidente qu'elles reçoivent. Des études montrent que pour certaines microalgues, environ 9,5 moles de photons permettent la fixation d'une mole de CO₂, alors que le rendement théorique maximal de photosynthèse indique qu'à minima 8 moles de photons sont nécessaires pour fixer 1 mole de CO₂ (**Melis, 2009**). Ces chiffres sont à nuancer car obtenus en conditions optimales et pour des irradiations solaires limitées. Sur la on constate en effet que passé un certain seuil, l'augmentation de l'irradiation solaire n'entraîne plus d'augmentation d'émission d'oxygène et donc de fixation de carbone. Lorsque que l'on compare ce seuil au profil de radiation solaire active on comprend qu'une partie des photons incidents ne sera pas utilisée à des fins de production de matière algale au moins par les algues à la surface de la culture. En considérant l'effet de dissipation de la lumière dans une culture, **Melis et al. (1998)** estiment que 60% des photons incidents ne sont pas actifs pour la photosynthèse dans une culture de *Dunaliella salina*. En bout de chaîne, on considère que le taux optimal de conversion énergie solaire / biomasse est d'environ 10% .

Ce rendement maximal théorique est de l'ordre de ceux rencontrés chez certains végétaux supérieurs mais il est plus facile de s'en approcher pour les microalgues. En effet,

les conditions de croissance en phase liquide sont plus faciles à optimiser et permettent notamment de ne pas être limité par l'apport en carbone (**Cadore & Bernard, 2008**).

1.9.5. Les microalgues comme ressource énergétique

Les microalgues sont valorisées ou valorisables dans de nombreux secteurs, mais du fait de la déplétion des ressources fossiles alimentant le secteur énergétique, un très fort intérêt se porte aujourd'hui sur leur utilisation dans ce secteur clé de l'économie mondiale (**Stephens et al., 2010**). La majeure partie des investissements aujourd'hui consentis dans le secteur des microalgues est orientée vers la production de bioénergie.

Certaines microalgues peuvent accumuler dans des conditions particulières de stress jusqu'à 75% de leur masse de matière sèche en lipides, principalement sous forme de triglycérides, contre 5% pour les végétaux supérieurs (**Metting, 1996; Amaro et al., 2011**). Ceci permet d'envisager leur utilisation pour la production de biodiesel (**Gouveia & Oliveira, 2009**). Ce biocarburant, baptisé de 3^e génération, n'entre pour l'instant pas en concurrence avec l'utilisation alimentaire des ressources renouvelables, contrairement au biodiesel issu d'huiles végétales (**Mata et al., 2010**).

Il est possible de doper la production de lipides par l'application d'un stress (carence en azote, en silice pour les diatomées, augmentation soudaine de l'intensité lumineuse, choc thermique ou osmotique). Les rendements en lipides des microalgues peuvent être 20 à 30 fois supérieurs à ceux des cultures oléagineuses types colza et tournesol (**Moheimani & Borowitzka, 2006**). Considérant ces caractéristiques, on comprend pourquoi les microalgues possèdent, parmi les cultures énergétiques, les meilleurs taux théoriques de production d'huile : 136900 L d'huile par hectare et par an contre moins de 10000 L pour les cultures oléagineuses classiques (tableau 1). Il faut noter qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de démonstrateur industriel permettant de valider de tels taux.

Type de culture (L/ha)	Productivité théorique d'huile
Maïs	172
Soja	446
Colza	1190
Jatropha	1892
Noix de coco	2689
Huile de palme	5950
Microalgue (MS = 30% huile)	58700
Microalgue (MS = 70% huile)	136900

Tableau 1 : Comparaison de diverses sources possibles de biodiesel (Chisti, 2007).

Le dopage de la production de lipides s'accompagne d'une baisse de la productivité en biomasse algale (**Chen et al., 2011**), ce qui limite la productivité en huile. Des conditions optimales de production sont déduites de la prise en compte de cette limitation et de nombreux travaux sont en cours, notamment en génétique, pour permettre de maximiser à la fois les productions de biomasse et de lipides.

Le biodiesel n'est pas le seul vecteur énergétique envisagé à partir de microalgues. La méthanisation de la biomasse algale peut par exemple permettre la production de gaz naturel (**Sialve et al., 2009**). Il a aussi été vu précédemment que certaines microalgues peuvent générer la production d'hydrogène. Il est aussi possible de produire du bioéthanol par fermentation des sucres de production algale, de pratiquer une combustion directe de la biomasse ou de passer par des conversions thermochimiques de cette biomasse comme la gazéification ou la pyrolyse (**Huesemann & Benemann, 2009**).

Aujourd'hui, de nombreuses startups, principalement américaines, tentent de commercialiser des carburants à base d'algues (**Chisti & Yan, 2011**). Des études théoriques montrent que ces derniers seraient économiquement viables pour un prix du baril de pétrole supérieur à 100 \$US (**Stephens et al., 2010**), mais malgré un prix actuel du baril supérieur à ce seuil, aucune entité ne peut actuellement se targuer de produire des biocarburants algaux de manière rentable face aux carburants fossiles. La plupart des chercheurs s'accordent à dire que le seuil de rentabilité ne sera pas atteint avant 10 ou 20 ans.

1.9.6. Dynamique recherche et développement autour des microalgues en Algérie

La filière microalgale est très dynamique à travers le monde et l'Algérie est en reste en ce qui concerne la recherche. Elle figure parmi les derniers pays déposant de brevets et de publications scientifiques sur le sujet (étude bibliométrique réalisée par Futur Green Life en 2011 dans le cadre de la mise en action du projet Partisano Biotech Algérie). Outre ce projet, de nombreux projets de recherche ont vu le jour récemment en université Algérienne.

Malgré cette dynamique de recherche, l'Algérie ne représente qu'une faible part des investissements industriels mondiaux dans le secteur des microalgues. Des initiatives comme par exemple celle du laboratoire de Mr Baba Ali et Aby Ayad a Oran ont pour objectif de répondre à cet état de fait. Le projet Partisano Biotech Algérie, a pour ambition d'intensifier le développement de la filière en Algérie par l'acquisition d'un démonstrateur de recherche et de développement. Il s'agit de démontrer la faisabilité industrielle des procédés développés en laboratoire.

1.9.7. Le projet Partisano Biotech Algérie

À l'heure actuelle, le projet PBA est le plus grand projet Algérien de culture de microalgues pour une valorisation en aliment de bétail et autres bioproduits tel que la pharmacologie et la cosmétique. Ce projet R&D regroupe trois grands groupes industriels deux Algériens et un Espagnol et des laboratoires de recherches universitaires locaux et étrangers.

Ce projet prend corps sur le constat que l'énergie est moins couteuse que l'autre rive de la méditerrané et que les zones littorales humides présentent un écosystème particulièrement favorable au développement de l'algoculture. De grand fond et de grandes superficies sont en effet mobilisables.

Les partenaires du projet PBA s'attachent à démontrer la faisabilité technico-économique d'une filière de production et valorisation des microalgues native et ce, en vue d'un déploiement industriel progressif à partir de 2016. Pour ce faire, un démonstrateur disposant de 250 m² de photobioréacteur a été construit sur le site de la SPPM SPA (Groupe

des Société Hasnaoui) a Sidi Bel Abbas. Cet outil, permet l'étude de la production des différentes souches de microalgue et la valorisation de la biomasse en aliment de bétail, aliments aquacoles, produit pharmaceutique, complément nutritive pour humain et la cosmétique.

CHAPITRE II

PRESENTATION DE

Dunaliella salina

II.1 *Dunaliella salina*, une matière première à fort potentiel

II.1.1. *Dunaliella salina*

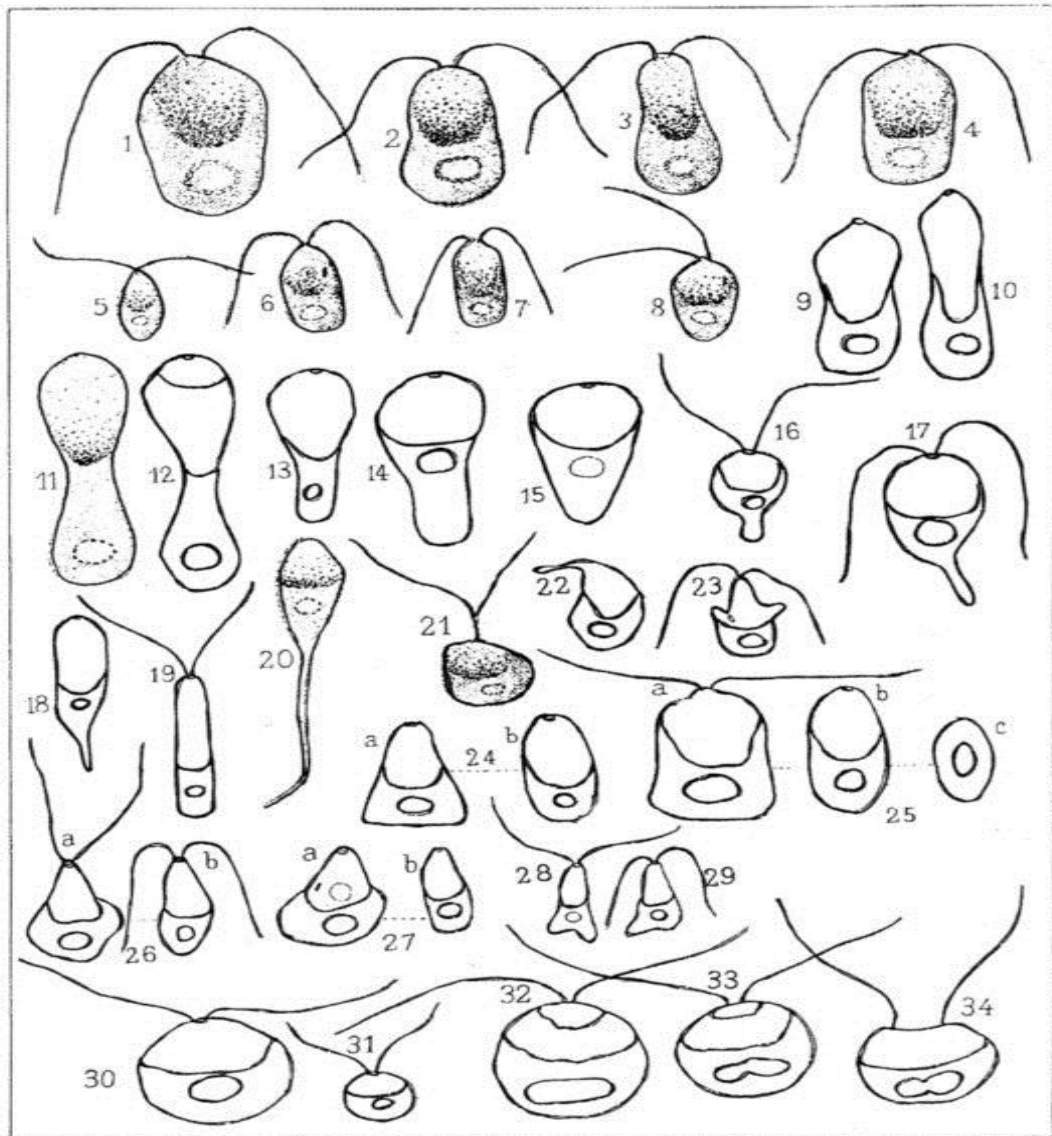
Dunaliella salina est une algue verte unicellulaire (Oren, 2005), bi-flagellé (Borowitzka, 1990), qui se développe spontanément dans les milieux lagunaires très salés. Sa taille varie entre 16 et 24 µm de long et entre 10 et 15 µm de large (Cadoret et Bernard, 2008). Elle produit une couleur distincte rose et rouge souvent caractéristique des mares salines (Oren et Rodriguez, 2001) (figure N°22), et se caractérise par ses capacités à se protéger des espèces invasives (Chabert, 2011).

C'est une espèce unique de micro-algues qui a évolué pour vivre dans des conditions environnementales extrêmes. Elle est considérée comme une extrémophile (Rothschild et Mancinelli, 2005).

II.1.2. Historique

Michel Félix Dunal été le premier qui découvre "*Dunaliella salina*" en 1838 (Oren, 2005), dans les bassins d'évaporation saline dans le Sud de la France (Dunal, F in Oren, 2005), mais elle n'a pas été nommé jusqu'en 1905 par Teodoresco (Oren, 2005).

Ce dernier a étudié le matériel recueilli dans un lac de sel roumain, tandis que Hambourg a travaillé avec des échantillons envoyés à elle des marais salants de Cagliari, en Sardaigne. Les deux auteurs ont présenté des dessins détaillés des organismes (Figure N° 20 et 21) et fournit des informations détaillées sur la morphologie, la structure cellulaire, la reproduction, le comportement et l'écologie.



Teodoresco.

Verlag von Georg Thieme in Leipzig.

Figure N°20: Dessins de **Hamburger (1905)** de globules rouges (*Dunaliella salina*)

(1-4) et les cellules vertes (*Dunaliella viridis*), (5-8), des formes diverses observées dans une chute qui devient plus concentré par évaporation, (9-29), des formes sphériques obtenues par dilution.

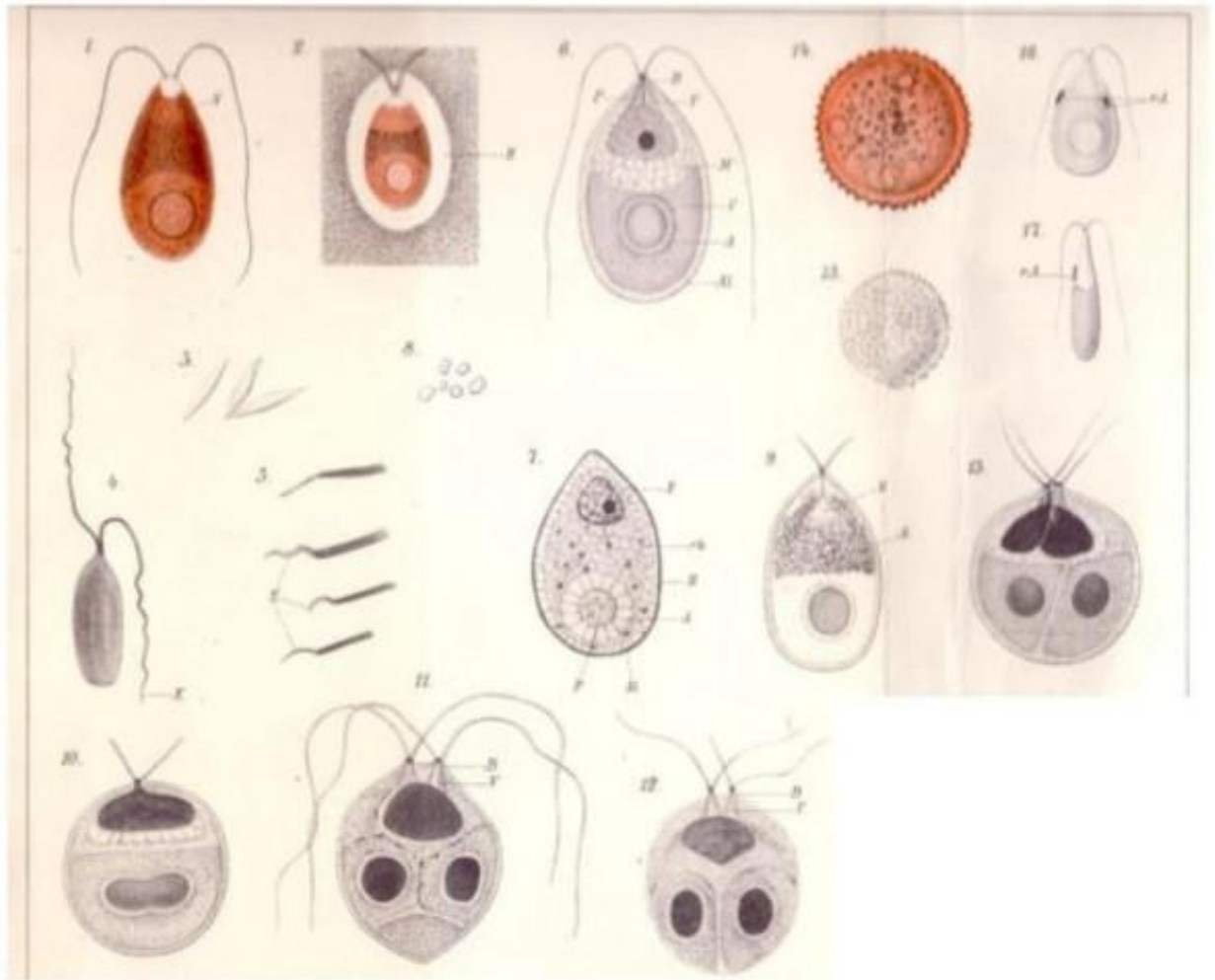


Figure N°21: *Dunaliella salina* (1-17) conservé avec différentes techniques de fixation, (3), cristaux de pigment; (8), les granules d'amidon; (10-13), les étapes de division; (14,15), aplanospores; (16 - 17), et les cellules vertes (*Dunaliella viridis*) (**Hamburger. 1905**).

Dunaliella salina est un organisme très primitif appartenant à une division des eucaryotes, qui ont évolué plus de 1 .5 milliard d'année (**Segovia et al, 2003**).

II.1.3. Taxonomie

Au cours du siècle qui s'est écoulé depuis sa description formelle, *Dunaliella* est devenu un organisme modèle idéal pour l'étude de l'adaptation au sel dans les algues. La mise en place du concept de bio soluté compatible pour assurer l'équilibre osmotique a été en grande partie basée sur l'étude de l'espèce *Dunaliella salina* (Oren, 2005).

(Teodoresco, 1905-1906, in Oren, 2005) ont décrit deux espèces: *Dunaliella salina* et *Dunaliella viridis*. La première a de plus grandes cellules, et dans des conditions appropriées, il synthétise des quantités massives de pigments caroténoïdes, la coloration des cellules de couleurs vives rouge. la deuxième ne produit jamais de tels globules rouges (Teodoresco, 1905 in Oren2005).

D'autres espèces ont été ajoutées ultérieurement au genre, notamment grâce à des études approfondies par Lerche (1937) et Butcher (1959) (tableau N° 2). Lerche (1937) a étudié le matériel collecté à partir des lacs salés en Roumanie et en Californie. Elle a conclu que la première espèce *Dunaliella viridis* est hétérogène et devrait être divisé en plusieurs nouvelles espèces. Ainsi, les espèces *Dunaliella médias*, *Dunaliella euchlora*, *Dunaliella minuta*, et *Dunaliella parva* ont été créés. Il faut souligner ici que toutes les espèces mentionnées toléraient des concentrations extrêmement élevées de sel dans laquelle *Dunaliella salina* et *Dunaliella viridis* se trouvent dans la nature. Certains sont généralement des organismes marins qui n'ont jamais été signalés dans les zones hyper.

Dunaliella salina est une microalgue unicellulaire dont la taxonomie fut proposée pour la première fois en 1905 par Teodoresco (Oren, 2005). C'est une espèce du domaine Eukaryota, du règne Plantae, du phylum Chlorophyta, de la classe Chlorophyceae, de l'ordre Chlamydomonadales (= Volvocales), de la famille Dunaliellaceae et du genre *Dunaliella* (Gonzalez et al., 2009). Il faut noter qu'à l'intérieur du genre *Dunaliella* qui comprend aujourd'hui 28 espèces, il est parfois très difficile de différencier ces dernières.(Besson, 2013).

Tableau N°2 : Les espèces *Dunaliella* sélectionnés

Nom	Auteur
<i>Dunaliella salina</i>	Teodoresco, 1905, 1906
<i>Dunaliella viridis</i>	„
<i>Dunaliella peirecei</i>	Nicolai et Baas Becking, 1935
<i>Dunaliella prava</i>	Lerche, 1937
<i>Dunaliella media</i>	„
<i>Dunaliella enclhora</i>	„
<i>Dunaliella minuta</i>	„
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Butcher, 1959
<i>Dunaliella primolrcta</i>	„
<i>Dunaliella quartolecta</i>	„
<i>Dunaliella polyporpha</i>	„

(Lerche, 1937).

II.1.3.1. Environnement naturel

Dunaliella salina est naturellement présente dans les marais salants et les mers à forte salinité (Polle et al., 2009). Elle est par exemple présente sur le site des salines d'Arzew l'étude illustrée dans ce mémoire est effectuée avec une souche isolée dans ces marais. Elle est l'un des organismes eucaryote les plus tolérants aux conditions environnementales extrêmes. Elle peut supporter des salinités massiques allant de 3% à la saturation en NaCl, des

pH de 5;5 à 11 et des températures comprises entre 0 et 40 °C (**Ginzburg, 1987** et **Mishra et al., 2008**). Dans ces gammes de conditions, *Dunaliella salina* est en suspension mobile.

Sa caractéristique membranaire la rend très digeste par les animaux et notamment par *Artémia salina* qui colonise le même type d'environnement. Cette crevette, aliment principal des flamants roses, est le principal prédateur de *Dunaliella salina* avec certains ciliés et autres protozoaires. Au sein du projet PBA (Partisano Biotech Algerie), des études sur l'impact environnemental du lancement de la filière sont réalisées en considérant les populations d'*Artémia salina*.

II.1.3.2. Morphologie

Cette algue verte halophile est pourvue de 2 flagelles d'égale longueur. Selon le taux d'irradiation lumineuse auquel elle est soumise, sa couleur apparente passe d'une teinte à dominante verte à une teinte rouge sang (**figure N° 22**). Ses dimensions moyennes sont de 11 µm de longueur (a) et 6 µm de largeur (b). Elle est de forme ovoïdale et son volume varie entre 50 et 100 µm³ (**Mishra et al., 2008**). Ce dernier est exprimé comme suit (**Giordano, 2001; Giordano & Bowes, 1997**) :

$$V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (a \cdot b^2)$$

Elle ne possède pas de paroi rigide de polysaccharides mais une fine membrane plasmique élastique couverte de muqueuses (**Jin & Melis, 2003**). Cette absence de paroi rigide permet un changement rapide de volume de cellule pour l'adaptation aux variations de pressions osmotiques.

Le corps de la zoospore de l'algue est enveloppé d'une membrane très nette, plus on moins mince, incolore, dotée d'une certaine souplesse et extensibilité, capable de suivre les mouvements de déformation du protoplasme et permet au corps de changer sa forme et de prendre divers aspects (**Fortier, J-F, in webmaster 02**).

Dunaliella salina est morphologiquement similaire à Chlamydomonas, la principale différence étant l'absence d'une paroi cellulaire chez *Dunaliella salina*. Elle a deux flagelles de longueur égale (**Borowitzka, MA et Borowitzka, LJ in Borowitzka, 1990**).

Dans *Dunaliella salina* et *Dunaliella parva*, le chloroplaste accumule de grandes quantités de B-carotène sorte que les cellules apparaissant au rouge orangé au lieu de vert. Le caroténoïde est sous la forme de gouttelettes (plastoglobules) situé à la périphérie du chloroplaste (**Ben-Amotz et al., in Borowitzka, 1990**). Dans l'algue cette β-carotène semble agir comme photo-protecteur "écran solaire" pour protéger la chlorophylle et l'ADN cellulaire

de l'irradiance élevée qui caractérise l'habitat normal de *Dunaliella salina* (**Ben-Amotz. Ben-Amotz et al, in Borowitzka, 1990**).

Borowitzka, MA et Borowitzka, LJ, in Borowitzka, MA (1988) ont également proposé que le β -carotène agisse également comme un « puits de carbone » pour stocker l'excès de carbone produit lors de la photosynthèse dans des conditions où la croissance est limitée, mais la fixation du carbone photosynthétique doit se poursuivre (**Borowitzka, 1990**).

A contrario, cette caractéristique ne facilite pas la culture et la récolte de l'algue. Cette dernière étant très sensible aux forces de cisaillement, durant sa production, l'utilisation de pompes centrifuges est proscrite et la taille des tuyaux de circulation doit être choisie en conséquence (**Borowitzka, 1991**). Le choix des procédés de récolte étudiés dans le cadre de ce travail tient compte de cette fragilité.

Dunaliella est classé comme une espèce comestible de phytoplancton (micro-algues). Aucune étude toxicologie humaine formelle ont été menées sur cette algue, cependant les effets néfastes de la consommation de l'ensemble des cellules de phytoplancton ou de bêta-carotène extrait de *Dunaliella* ont été rapportés dans les études cliniques humaines (**Anonyme 05**).

II.1.3.3. Caractère halophile

Dunaliella salina a la rare capacité de pouvoir réaliser la photosynthèse dans un milieu hypersalin (**Raja et al., 2007; Liska et al., 2004**). Ceci lui confère une originalité qui lui permet de se développer dans cet environnement quasi vierge d'organismes concurrents.

Outre la non rigidité de sa paroi, *Dunaliella salina* s'appuie sur un système de transport des ions Na^+ pour s'adapter à la pression osmotique exercée sur ses parois. Ceci lui permet de conserver une concentration en Na^+ intracellulaire très inférieure aux concentrations externes.

Cette algue réagit aussi à une soumission rapide à des concentrations élevées en sel, en modifiant la composition de sa membrane. Dans ces circonstances, on constate au niveau membranaire des changements de compositions phospholipidiques, protéiques et une présence accrue de tubuline (**Katz et al., 2007; Azachi et al., 2002**).

L'autre caractéristique de *Dunaliella salina* est l'accumulation de glycérol due à la imperméabilité de la membrane à ce composé (**Oren, 1999**). Cette accumulation participe aussi à l'équilibre de la balance osmotique. **Borowitzka & Brown (1974)** ont montré que *Dunaliella viridis* pouvait accumuler de très fortes concentrations en glycérol dans son

cytoplasme pour combattre l'effet du stress osmotique imposé par le milieu hypersalin, Ainsi pour survivre ces organismes ont des concentrations élevées de glycérol pour fournir une protection contre la pression osmotique due au milieu hyper-salin (**Fortier, J-F, in webmaster 02**).

Ben-Amotz et al. (1982) présentent dès 1982 *Dunaliella salina* comme une source commerciale de glycérol.

II.1.3.4. Caractère hydrophobe

Comme vu précédemment, la composition membranaire de *Dunaliella salina* est fonction de son environnement. Le brevet de **Curtain & Snook (1985)** postule que passée une certaine concentration de NaCl dans la saumure (3M, environ 174 g/L), la membrane des algues du genre *Dunaliella* peut revêtir des propriétés hydrophobes. Les auteurs utilisent cette propriété pour extraire l'algue par adsorption sur des surfaces hydrophobes. Pour des plus faibles concentrations

en NaCl, la composition de la surface des cellules est dominée par la présence de groupes polaires et n'est donc pas hydrophobe. Le passage d'un comportement hydrophile à un comportement hydrophobe n'est ceci dit pas abrupt.

En parallèle, **Mishra & Jha (2009)** ont constaté que la production de substances polymériques extracellulaires (EPS) augmente avec la salinité pour être maximale à 5 M de NaCl (environ 290 g/L de NaCl). Ces polymères, en plus d'être une source valorisable (**De Philippis et al., 2001; Suresh Kumar et al., 2007; Mishra et al., 2010**) pourraient conférer à *Dunaliella salina* des propriétés intéressantes pour sa récolte. Certaines études montrent en effet que la présence d'EPS sur la membrane de cellules microbiennes augmente significativement leur caractère hydrophobe (**Gao et al., 2008; Li et al., 2006**). Toutefois, la difficulté de caractérisation des EPS complique fortement l'analyse de leur influence sur le procédé de récolte.

II.1.3.5. Photo-attraction - Phototaxie

Dunaliella salina a une phototaxie positive, elle est attirée par la lumière (**Wayne et al., 1991**).

En cas de non agitation du milieu, *Dunaliella salina* est attirée à la surface du bassin du fait de cette photo-attraction. Cette caractéristique pourrait être utilisée pour préconcentrer les algues avant la récolte. **Schlipalius (1991)**

II.1.4. Cycle de vie

La prolifération des microalgues s'effectue principalement par reproduction asexuée ou multiplication végétative : une cellule mère se divise alors en deux cellules filles génétiquement identiques. Cependant, comme la majorité des eucaryotes, les microalgues peuvent aussi se multiplier par reproduction sexuée. Cette phase du cycle de vie, est généralement déclenchée par des conditions environnementales particulières souvent multifactorielles. La nature de ce stimulus, peu ou pas connu, représente souvent un obstacle aux études du cycle cellulaire de certaines espèces (**Coleman & Pröschold 2005**).

Dunaliella salina peut se reproduire de façon asexuée, sexuée et par la division des cellules végétatives mobiles (**figure N°23**). La reproduction sexuée, la formation de deux gamètes dans la zygospore est affectée par des concentrations de sel (**Oren, 2005**).

Martinez et al (2013) ont déterminé l'activité sexuelle de cette algue à partir du rapport d'évaluation des zygotes et des zygospores de cellules totales observées dans la culture. Une faible concentrations en sel de 2% et 5% induit l'activité sexuelle, tandis que les taux élevés en sel de 30% diminue la reproduction sexuée.

Dunaliella salina présente une reproduction sexuée de type hétérothallique et isogamique avec différentes phases du cycle de vie identifiées et présentées sur **la Figure N° 22 (Oren 2005, Borowitzka & Siva 2007)**. Stimulées par une dessalure du milieu ou par des conditions limitantes, deux cellules mobiles indifférenciées ou gamètes (haploïdes) fusionnent par l'apex grâce à l'émission d'un tube reproducteur pour former le planozygote. Cette cellule diploïde tétraflagellée produit une paroi résistante et perd ses flagelles pour donner le zygote. Par germination, généralement induite par une dessalure du milieu (précipitations), le zygote se divise en 4 à 8 cellules, plus rarement de 16 à 32, libérées par rupture de la paroi. La taille interviendrait dans la compétence des cellules à réaliser la reproduction sexuée. En effet, lorsque la taille des cellules végétatives est réduite, il existe un stade Palmellae intermédiaire avant la reproduction (**Montoya & Olivera 1993, Borowitzka & Siva 2007**). Les cellules se présentent alors dépourvues de flagelles et agglomérées au sein d'une matrice mucilagineuse. En conditions salines non optimales ou de limitation par l'azote, les cellules végétatives peuvent évoluer en aplanospores, cellules à paroi rigide et dépourvues de flagelles, forme de résistance (cyste) de l'espèce (**Borowitzka & Huisman 1993**).

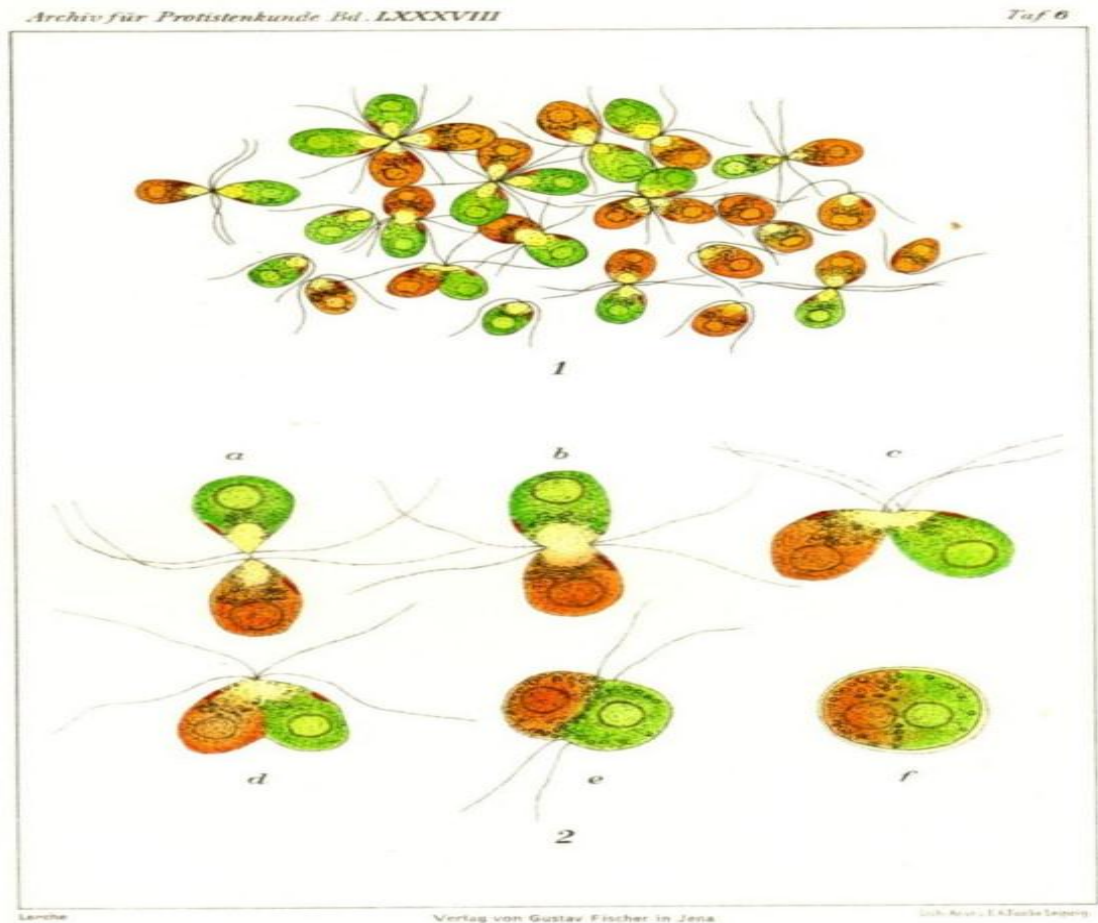


Figure N°22: Agrégation du rouge et du vert sous la forme de *Dunaliella salina* (partie supérieure) et la formation du zygote de *Dunaliella salina* (vert et rouge forme) (partie inférieure) (Lerche, 1937).

II.1.5. Ecologie

Dunaliella salina se trouvent dans des endroits à haute salinité telles que des saumures salées, marais salants et lacs hypersalines (Brock, 1975). Elle s'est adaptée à ces conditions par l'accumulation de glycérol pour équilibrer la pression osmotique. Elle est également adapté aux rayonnements solaires à l'aide de β -carotène pour se protéger contre l'énergie ionisante (Schlipaulis, 1991).

Labbé (1921, 1922) ont montré des changements dans la structure de la communauté algale et en reliant ces facteurs aux variations de salinité (la pression osmotique, viscosité) de la saumure, mais il a également reconnu le rôle de l'intensité lumineuse et la température de l'eau, ainsi que du pH. Il a décrit un cycle annuel qui, au début de l'hiver quelques cellules

rouges mobiles (érythrospores) et les petites cellules vertes mobiles (chlorospores) sont présents (**Labbé, 1921**).

La dilution de l'eau par les pluies d'hiver déclenche la formation de kystes rouges ("érythrocytes"), mais les "chlorospores" se développent rapidement, conjugué, et forment des «chlorocystes». Lorsque la concentration en sel augmente durant la saison estivale, les cellules rouges mobiles commencent à apparaître, toujours accompagnées par les cellules vertes:

Progressivement les erythrospores qui sont formés à partir de chlorospores prolifèrent, et leur domination est en fonction de la concentration en sel.

Les zones où les rayons UV sont plus élevés et une faible pluviométrie fournissent un parfait environnement pour la croissance de cette algue. Pour plus d'avantages bénéfiques pour la santé, le phytoplancton doivent être cultivées dans un endroit propre, riches en minéraux des eaux marines et récoltées et séchées mécaniquement, sans l'utilisation des produits chimiques ou solvants (**Anonyme 05**).

II.2.. Besoins nutritionnels

A. Source de Carbone

Tout *Dunaliella spp* étudiés jusqu'à présent sont des photo-autotrophes strictes. L'approvisionnement en carbone inorganique est particulièrement important pour la culture de *Dunaliella salina*, car, à la salinité très élevés au cours de laquelle cette algue se développe, la solubilité du Carbone inorganique est faible, c'est à dire à 25% de NaCl la solubilité du carbone inorganique est <50% de celle de la salinité des mers (NaCl 3%). En outre, à la température élevée et à un pH habituellement dans les saumures naturelles dans lesquelles *Dunaliella salina* croît, la majeure partie du carbone inorganique (> 99%) est sous forme de CO_3^{2-} et n'est donc plus disponible pour être absorbée par l'algue (**Oren, 2005**).

Dunaliella salina est une algue phototrophe stricte, elle puise l'énergie nécessaire à son maintien et à son développement exclusivement dans la lumière. Lors de la photosynthèse, elle fixe du carbone inorganique (autotrophe).

La solubilité de ce carbone inorganique dans les eaux salées étant faible, il est nécessaire d'envisager des apports en carbone dans le cas d'une intensification de la culture. Une régulation du pH s'impose alors pour éviter de perturber la croissance en abaissant trop

fortement le pH lors du bullage de CO₂ par exemple. Il faut noter que selon le pH, le carbone inorganique n'est pas forcément sous une forme assimilable par la microalgue (Besson, 2013).

B. Source d'Azote

La meilleure source d'azote pour *Dunaliella* est le nitrate (Mil'ko, 1962; Grant, 1968; Borowitzka, MA & Borowitzka, 1988 in Borowitzka, 1990). Les travaux de Borowitzka, MA & Borowitzka (1988) ont montré que le nitrate d'ammonium inhibe la formation de β -carotène, et dans l'absorption des cultures de plus en plus activement de l'ammonium conduit à une acidification du milieu qui provoque la mort de l'algue (Borowitzka, 1990).

Du fait de sa faible demande en énergie pour son assimilation, NH⁺⁴ est la source d'azote optimale pour la croissance de *Dunaliella salina*. Il est cependant montré qu'un apport en azote sous forme NO⁻³ peut permettre d'accroître dans certaines conditions la production de glycérol (Giordano, 2001). Au delà d'une certaine concentration, les ions NH⁺⁴ deviennent toxiques pour la culture,

c'est pourquoi l'apport d'azote par NO⁻³ est souvent privilégié (communication personnelle avec des spécialistes de la culture de *Dunaliella salina*).

C. Phosphore

Leur concentration optimale est d'environ 0,02 à 0,025 g.l⁻¹ K₂HPO₄ (McLachlan, 1960; Mil'ko in Borowitzka, 1990). Des concentrations élevées peuvent effectivement inhiber la croissance de cette algue.

Les phosphates sont la meilleure source de phosphore pour la croissance des algues.

Cependant, McLachlan (1960) a montré que la prudence doit rester de mise lors de leur utilisation, car de très fortes concentrations dans le milieu de culture peuvent inhiber la croissance de *Dunaliella tertiolecta* par exemple.

D. Magnésium et Calcium

Ces deux cations sont nécessaires pour la croissance et *Dunaliella* peuvent tolérer une large rapport de (Mg²⁺ : Ca²⁺) allant de 0,8 à 20,0. Pour *D. tertiolecta* un

rapport de 4 pour ($Mg^{2+} : Ca^{2+}$) a été signalée comme optimale (McLachlan in Borowitzka, 1990)

E. Chlorure et sulfate

Massyuk (1965) a montré que le ratio optimal Cl^-/SO_4^{2-} pour la croissance de *Dunaliella salina* est de 3;2. Il est de 8;6 pour la production de β -carotène. Ces paramètres doivent donc être choisis en fonction de l'objectif de valorisation visé.

F. Fer et autres éléments

De faibles concentrations de fer dans une forme qui peut être assimilés sont essentielles pour la croissance de *Dunaliella*. La concentration optimale de fer pour la *D. salina* et *D. viridis* se situe entre 1,25 à 3,75 $mg.l^{-1}$ (Mil'ko in Borowitzka, 1990) et doivent être fournis sous une forme chélaté tel que le citrate de fer (Borowitzka, MA & Borowitzka, 1988 in Borowitzka, 1990). De fortes concentrations de Fe inhibent la croissance.

Des traces de Zn, Co, Cu, Mo et Mn sont nécessaires à la croissance des algues. Selon les eaux utilisées pour préparer le milieu de culture il n'est pas forcément nécessaire d'en ajouter artificiellement.

II.3. Facteurs du milieu

II.3.1. pH

Il n'est pas donné dans ce paragraphe de valeurs exactes. En effet, les optimaux pour chaque critères sont généralement corrélés aux autres critères.

Bien que pouvant vivre dans une large gamme de pH, le pH optimal de culture de *Dunaliella salina* est compris entre 7 et 9 selon les études (Loeblich, 1982). Cette fourchette a été confirmée durant la phase laboratoire de cette étude.

Le pH optimal pour la croissance de la marine *D. tertiolecta* est un pH de 6, alors que pour la halophile *D. salina* et *D. viridis* est un pH d'environ 9 (Loeblich in Borowitzka, 1990).

II.3.2. Température

Il en va de même pour la température optimale qui varie entre 20 et 40°C, selon la souche et la valorisation souhaitée. Les températures supérieures à 40°C semblent létales.

La température optimale de croissance de *D. salina* est de l'ordre de 20 à 40 ° C (**Borowitzka, LJ in Borowitzka, MA, 1990**) selon la souche. *Dunaliella salina* peut tolérer des températures extrêmement basses en dessous de zéro (**Siegel et al., in Borowitzka, MA, 1990**), mais des températures supérieures à 40 ° C sont habituellement mortelles. Il ya aussi une forte interaction entre le taux de croissance, la température et la salinité (**Gimmler et al, Borowitzka, MA & Borowitzka (1988) in Borowitzka, 1990**) et entre l'intensité de la lumière et de la tolérance de température (**Federov et al in Borowitzka, 1990**).

II.3.3.La Salinité

En ce qui concerne la salinité optimale pour la croissance des algues, **Mishra et al. (2008)** proposent une salinité de 58 g/L avec une très bonne croissance à 116 g/L. Ce dernier résultat coïncide avec les travaux de **Munoz et al. (2004)** qui avancent une salinité optimale de croissance de 116 g/L tandis que les premiers résultats se rapproche des gammes obtenues dans le cadre de cette étude.

II.4. Bio constituants actifs disponible

Dans son état naturel, chaque cellule de *Dunaliella salina* fournit un équilibre holistique de vitamines, minéraux et phytonutriments.

II.4.1. Caroténoïdes

L'activité antioxydante du phytoplancton *Dunaliella salina* est due à sa forte teneur en caroténoïdes mélangés, une classe des pigments jaunes, oranges et rouges synthétisées par les plantes, les algues et les micro-organismes photosynthétiques. Parmi environ 600 caroténoïdes identifiés dans la nature, plus de 500 ont été trouvés dans *Dunaliella salina*.(**Besson ,2013**)

Elle est extrêmement riche en caroténoïdes antioxydants bêta carotène, alpha carotène, la lutéine, la zéaxanthine, la cryptoxanthine. De manière significative, il est plus riche dans la nature des sources alimentaires connues de bêta-carotène.

II.4.2. Minéraux

Cette algue est très riche en minéraux, y compris le magnésium, le potassium, le zinc, le fer, le manganèse, le bore, sélénium et lithium. C'est son teneur en magnésium qui est particulièrement élevé (**Anonyme 05**).

II.4.3. Vitamines

Dunaliella salina contient une gamme de vitamines, y compris Vitamine E, diverses vitamines du groupe B: B1, B3, B5, B6, B12, l'acide folique et la provitamine A (bêta carotène naturel).

II.4.4. Acides aminés

Dunaliella salina est une source de protéine complète, contenant tous les acides aminés essentiels (**Tableau N°3**). Les acides aminés sont des constructions de base de la vie, nécessaires à la synthèse des muscles, la peau, les tissus conjonctifs, les hormones, les enzymes et les neurotransmetteurs (**Anonyme 05**).

Tableau N°3: Tous les acides aminés essentiels contenants dans *Dunaliella salina*.

Les acides aminés essentiels de <i>Dunaliella Salina</i>	
Alanine	Méthionine
Arginine	Phénylalanine
L'acide aspartique	Proline
Serine	Cystéine
Thréonine	Acide glutamique
Glycine	Tryptophane
Tyrosine	Histidine
Isoleucine	Valine
leucine	Lysine

(Anonyme 05).

II.4.5. Chlorophylle

Dunaliella salina contient une quantité importante de chlorophylle, un agent nettoyant puissant reconstituant du sang et un antibiotique naturel qui est capable de chélater les métaux lourds et les toxines du corps.

La structure chimique de la chlorophylle est semblable à l'hémoglobine, l'oxygène porte la protéine des cellules rouges du sang. La différence fondamentale entre l'hémoglobine et la chlorophylle est l'atome métallique dans le centre de chaque molécule, les molécules de chlorophylle ont du magnésium tandis que l'hémoglobine contient du fer (**Anonyme 05**).

II.5.Culture de *Dunaliella salina*

Dunaliella salina est la troisième microalgue la plus produite au monde derrière *Arthrospira platensis* (plus connue sous le nom commun « Spiruline »), qui est une cyanobactérie souvent confondue avec une algue et derrière *Chlorella* (**Borowitzka, 1999; Dibenedetto, 2011**).

En 2004, la production annuelle de *Dunaliella salina* était estimée aux alentours de 1200 tonnes (**Pulz & Gross, 2004**).

Divers systèmes de culture sont aujourd'hui utilisés pour produire *Dunaliella salina*. On classe ces différents systèmes en deux catégories, les systèmes ouverts et fermés. Quel que soit le système choisi, il est nécessaire de se prévenir ou de limiter toute contamination par d'autres algues ou protozoaires (**Borowitzka, 1999**), même si le caractère extrême du milieu de culture réduit

fortement les risques (**Das et al., 2011**). Dans les 2 types de systèmes, l'apport de lumière est l'un des critères prépondérants de la productivité constatée (**Mata et al., 2010**).

II.5.1.Différents système de culture existant

A. Systèmes de culture fermés - photobioréacteurs (PBR)

Les systèmes fermés permettent un meilleur contrôle des conditions de culture que les systèmes ouverts. Il s'agit ici de faire croître l'algue dans un environnement sélectif isolé, ce qui n'exclut pas la culture en systèmes fermés utilisant la lumière solaire. Le contrôle des conditions permettant d'atteindre l'optimal de croissance est facilité dans ce type de systèmes (**Harun et al., 2010**).

Ils sont conçus de façon à optimiser les conditions de culture et leur contrôle tout en maximisant la surface d'exposition à la lumière. Les photobioréacteurs tubulaires sont constitués de tubes transparents (verre ou plastique) d'un diamètre de 0,1 m maximum. Le diamètre du tube reste limité, afin de permettre une pénétration optimale de la lumière dans tout le volume de culture. Afin de palier à ce problème, ces photobioréacteurs se composent d'une succession de rangées de tubes, alignés de manière horizontale ou verticale par rapport au sol ; ou bien enroulés en hélice (**Cadoret et Bernard, 2008**) (**figure N°23**).

Les risques de contamination sont bien moindres que pour une culture ouverte.

La culture peut s'effectuer sous lumière naturelle ou artificielle, dans des PBR qui vont du simple sac posé au sol à des design bien plus sophistiqués. Diverses configurations de PBR existent, la plupart ont pour objectif d'optimiser l'apport en lumière souvent limitant.

Les nouvelles avancées dans le domaine de l'apport lumineux (LED, fibres optiques, design des PBR) permettent d'augmenter l'efficacité des systèmes fermés.

Zimmerman *et al.* (2011) affirment que des PBR airlift permettent un bon maintien en suspension des microalgues et facilitent leur mise en circulation ce qui favorise l'accès à la lumière. Selon la taille et la composition des bulles créées, ils permettent aussi de faciliter le transfert de carbone inorganique nécessaire à la croissance et de stripper l'oxygène qui pourrait bloquer cette dernière à des concentrations trop importantes. Ce stripage d'oxygène et cet apport en carbone inorganique font partie des enjeux majeurs de la production en PBR, avec l'apport de lumière.



Figure N°23 : Photographie d'un photobioréacteur tubulaire en hélice
(Cadoret et Bernard, 2008)

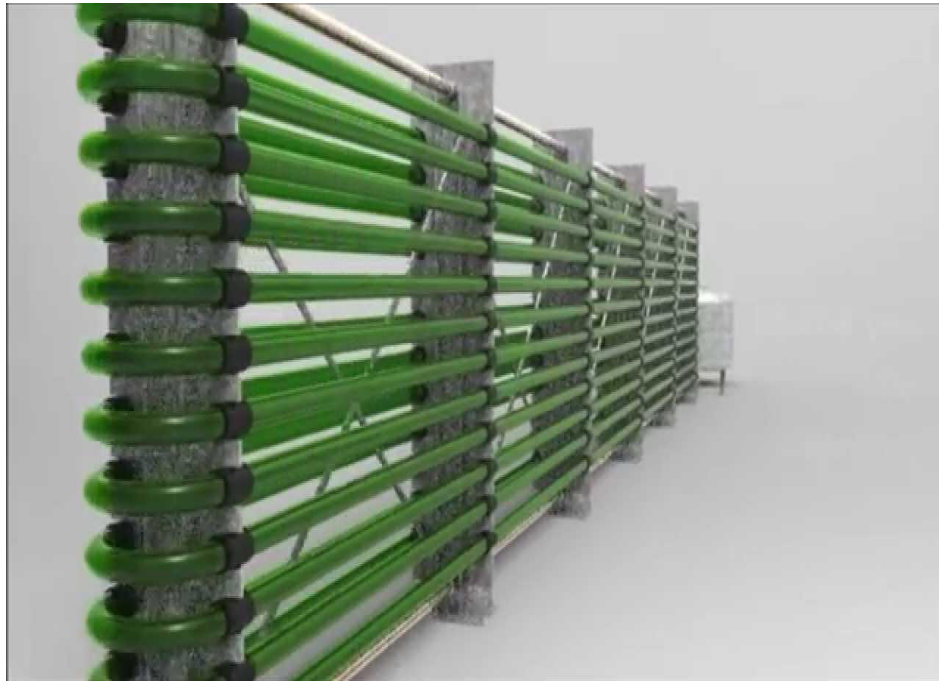


Figure N°24 : Photographie d'un photobioréacteur tubulaire en ligne
(BFS, 2008)



Figure N°25 : Photographie d'un photobioréacteur cylindrique
(BFS, 2008)

B. Systèmes de culture ouverts

Les systèmes ouverts permettent l'utilisation de la lumière naturelle (**Terry & Raymond, 1985**). Ils sont opérés en plein air et donc sujets aux contaminations et variations de paramètres de culture. **Borowitzka (1994)** affirme qu'il est difficile d'atteindre des concentrations supérieures à 1 g de matière sèche par litre dans des bassins ouverts. Les moindres concentrations des solutions algales obtenues entraînent une augmentation des coûts de la récolte de la biomasse (**Lee, 2001**).

L'emplacement géographique du lieu de culture et les conditions environnementales correspondantes jouent un rôle essentiel sur les paramètres d'optimisation du système. Des conclusions sur un lieu peuvent difficilement être extrapolées à un autre.

L'apport de lumière et l'agitation sont deux caractéristiques essentielles de la culture. La profondeur d'eau dans les différents bassins doit être suffisante pour assurer une bonne agitation sans pour autant priver les algues de lumière au fond de bassin (**Borowitzka, 1999; Garcia- Gonzalez et al., 2003**).

On retrouve 2 principaux types de systèmes de culture ouverts pour *Dunaliella salina*, les étangs à bas-fonds et les raceways. Les bassins circulaires avec bras rotatif de brassage sont peu voire pas rencontrés pour la culture de cette algue, mais plus développés pour celle de *Chlorella* notamment.

C. Les étangs à bas-fonds

Les étangs à bas-fonds sont notamment utilisés en Australie, principal pays producteur de *Dunaliella salina*. Dans ces bassins, le mélange s'effectue seulement grâce au vent et aux vagues. Leur profondeur varie entre 20 et 50 cm. Il s'agit de cultures extensives dans lesquelles l'algue croît quasiment sans l'intervention de l'homme. Dans certaines cultures, l'imperméabilisation des fonds est assurée par une croûte composée de carbonate de calcium et de sulfate de calcium (**Schlupalius, 1991**). Cette croûte se forme sous l'action répétée de l'évaporation de l'eau salée (exemple des tables de récolte dans les marais salants).

Des études sur les bassins à bas-fonds ont montré l'importance des vents dominants dans le processus d'agitation. L'orientation des bassins doit être fonction de ces vents dominants et le couplage avec une profondeur optimale permet d'éviter l'utilisation d'une agitation mécanique ou par aération (**Borowitzka, 1991**). La variation de direction des vents peut être positive pour le mélange. L'absence de vent peut provoquer un manque de recirculation des algues, qui s'accumulent à la surface par photo-attraction et forment une couche supérieure gélatineuse dans laquelle elles ne peuvent se développer normalement.

Dans des conditions de très faible agitation par le vent, cette couche supérieure est amenée vers le rivage où les algues sèchent et meurent (**Schlipalius, 1991**). Une attention particulière doit donc être portée aux zones abritées.

La plupart des études ayant lieu en laboratoire, le passage à l'échelle du pilote extérieur s'accompagne toujours d'une perte de productivité. En Australie, une étude a par exemple montré une baisse de la productivité en caroténoïdes de 44% entre l'échelle laboratoire et le pilote extérieur (**Moulton et al., 1987**). Le changement d'échelle entre différents étangs est moins problématique et s'accompagne même parfois de points positifs, notamment en ce qui concerne les perturbations par les intempéries moins ressenties sur de grands bassins.



Figure N° 26: Le lac Hillier en Australie (**Lucy_Hill - Fotolia.com**)

D. Les Raceways (« champs de courses »)

Les raceways sont des bassins artificiels développés notamment en Chine, Israël, Inde, Vietnam, Chili, USA, . . . Dans ces réacteurs ouverts, la plupart du temps, le mélange est assuré artificiellement par des roues à aubes qui permettent un respect relatif de l'intégrité des cellules (**Garcia-Gonzalez et al., 2003**). Leur profondeur est généralement comprise entre 20 et 30 cm pour maximiser l'apport de lumière sans poser de problème en ce qui concerne l'agitation. La

vitesse de déplacement de la solution induite par les roues à aubes est d'environ 0,2 m/s et dans la plupart des cas un apport en C_{O_2} est effectué aussi de manière artificielle pour maximiser la productivité (Del Campo et al., 2007).



Figure N°27: Photographie aérienne des bassins de culture d'Earthrise Nutritional
(Cadoret et Bernard, 2008)



Figure N°28: Photographie aérienne des bassins de culture de cyano tech hawai
(Cadoret et Bernard, 2008)

II.6. Valorisations de *Dunaliella salina*

La tendance actuelle au « greenwashing » dans de nombreux secteurs permet d'envisager sereinement une hausse de la consommation de microalgues et une diversification des secteurs de valorisation.

En ce qui concerne *Dunaliella salina*, sa valorisation peut être multiple. Et a pour objectif l'utilisation de cette algue comme matière première d'une bioraffinerie de nouvelle génération et vise la production de β -carotène, de biodiesel, de compléments alimentaires, de protéines pour la nourriture aquacole, de biogaz et de nutriments post-méthanisation.

Les facteurs d'échelles différents de chaque type de marchés compliquent cette multi-valorisation. De nombreuses études sont réalisées pour permettre de privilégier certaines voies métaboliques. La gestion des carences en éléments nutritifs, du flux lumineux, de la température, de la salinité permet notamment de privilégier la production de certains composés aux dépens des autres.

II.6.1. Production de caroténoïdes

Les pigments naturels sont de plus en plus utilisés dans les secteurs alimentaire, cosmétique et nutraceutique. Les caroténoïdes et notamment le β -carotène servent notamment de colorants alimentaires (E160a), de compléments vitaminés (provitamine A) dans la nourriture humaine ou animale et d'agents filtrants contre le soleil. Ce sont des molécules à très haute valeur ajoutée (**Raja et al., 2007**), connues aujourd'hui pour leur caractère antioxydant.

Ils agissent chez les algues comme des photo-protecteurs (**Ben-Amotz & Avron, 1981; Ben-Amotz et al., 1989; Jin & Melis, 2003**). Ils peuvent aussi permettre le stockage du carbone produit en excès par photosynthèse en conditions de limitation de croissance (**Borowitzka, 1992**).

Dunaliella salina peut accumuler une grande quantité de caroténoïdes dans ses chloroplastes sous forme de gouttelettes (**Borowitzka, 1990; Vorst et al., 1994**). En 1965, constatant cette capacité, Massyuk propose pour la première fois la culture de *Dunaliella salina* à des fins commerciales (**Massyuk, 1965**). Actuellement, elle est principalement cultivée pour cette capacité de production de caroténoïdes. Elle est d'ailleurs la première source de β -carotène naturel au niveau mondial (**Martin del Campo & Patino, 2013**) et est reconnue comme étant la meilleure source commerciale de β -carotène naturel (**Hosseini Tafreshi & Shariati, 2006**). Des études ont montré que *Dunaliella salina* peut accumuler jusqu'à 13,8% de sa masse totale de matière sèche en β -carotène (**Aasen et al., 1969**).

Pour maximiser la production de caroténoïdes, l'algue est cultivée dans des conditions de limitation de l'apport en nutriments (carence en azote notamment), de sur-irradiation lumineuse et de fortes températures qui ne favorisent pas le développement de la biomasse (**Borowitzka, 1991**). **Hadi et al. (2008)** ont montré que la production de β -carotène augmente avec la salinité.

Pour maximiser la production de β -carotène on peut se placer à des salinités supérieures à 27% massique de NaCl. Si l'on confronte celle-ci à l'optimale de croissance (18 à 22%), on obtient une salinité optimale de culture dans l'optique de la production de caroténoïdes d'environ 24% massique de NaCl (**Borowitzka et al., 1984**). Il est aussi possible de mettre en place des procédés permettant d'optimiser la croissance de l'algue dans un premier bassin et de maximiser la production de caroténoïdes dans un bassin à salinité importante (**Avron & Ben-Amotz, 1978**), c'est la technique utilisée dans les productions commerciales en Israël. L'influence des facteurs environnementaux ou des paramètres de culture sur la production de cellules de *Dunaliella salina* et sur la capacité des cellules à accumuler du β -carotène.

Il est montré que pour les cultures en systèmes ouverts (open ponds), l'intensité de la lumière et la présence de protozoaires prédateurs sont les 2 paramètres principaux influençant les rendements en caroténoïdes (**Post et al., 1983; Borowitzka et al., 1984**).

Hejazi et al. (2004) ont mis au point une technologie de bioréacteurs double-phasiques contenant un solvant organique qui permet de récolter le β -carotène en continu avec une très bonne productivité ($2;45 \text{ mg/L}^{-1}/\text{jour}^{-1}$ à comparer aux $0;1 \text{ mg/L}^{-1}/\text{jour}^{-1}$ dans les étangs australiens et $1;5 \text{ mg/L}^{-1}/\text{jour}^{-1}$ dans les raceways Israéliens), sans récolter les algues et sans passer par la phase d'extraction. Cette technique est baptisée « milking » et d'après les tests laboratoires elle peut être conduite sur des longues durées sans perte de la viabilité et de la productivité des cellules et avec une efficacité d'extraction supérieure à 55%. Une autre étude contredit la conservation de l'intégrité des cellules avec la méthode utilisée (**Kleinegris et al., 2011a**). Les différents mécanismes menant à l'excrétion des métabolites d'intérêts (excrétion ; perméabilité de la cellule ; mort de la cellule) sont discutés dans une revue des mêmes auteurs (**Kleinegris et al., 2011b**).

II.6.2. Production de biodiesel

Dunaliella salina n'est pas reconnue en premier lieu pour sa capacité à produire les métabolites menant à la formulation de biodiesel mais cette dernière peut tout de même accumuler une certaine quantité de lipides valorisables.

Rabbani et al. (1998) ont rapporté que sous conditions de stress lumineux, *Dunaliella salina* accumule des larges gouttes de lipides principalement formées de triglycérides et de β -carotène.

Une augmentation parallèle du taux de β -carotène et de triglycérides est constatée dans cette étude. Ce dernier résultat est nuancé dans une étude plus récente qui rapporte une augmentation de la concentration de certains acides gras et une diminution de la quantité totale d'acides gras lors de l'augmentation de la concentration en β -carotène (**Lamers et al., 2010**).

Tornabene et al. (1980) ont aussi rapporté que *Dunaliella salina* pouvait accumuler entre 45 et 55% de sa masse sèche en lipides, ces derniers étant composés dans leur étude de plus de 30% d'hydrocarbures. **Park et al. (1998)** ont aussi montré que cette microalgue pouvait accumuler des taux intéressants d'hydrocarbures.

II.6.3. Production de protéines

Chez *Dunaliella salina*, la production de protéines diminue avec la salinité pour augmenter finalement fortement à saturation en NaCl. Ces protéines peuvent notamment être valorisées directement dans l'industrie agroalimentaire ou indirectement en passant par l'aquaculture (**Borowitzka, 1997; Becker, 2007**).

II.6.4. Production d'acides gras essentiels

Dunaliella salina peut contenir des quantités valorisables d'acides gras essentiels (dans les groupes oméga 3 et 6 notamment). Parmi les ω 3 produits par *Dunaliella salina* on retrouve des acides eicosapentaénoïques (EPA) et des acides docosahexaénoïques (DHA) utilisés comme suppléments nutritifs ou comme additifs pour la nourriture animale.

II.6.5. Méthanisation des déchets de bioraffinerie

Une fois les composés valorisables récupérés, il est possible de méthaniser « les déchets » restants pour obtenir du biogaz et des nutriments. Chez *Dunaliella salina* la difficulté de l'étape de méthanisation réside dans la haute salinité du milieu de culture résiduel qui peut fortement limiter la méthanogénèse.

CHAPITRE III

PRÉSENTATION DE LA ZONE D'ÉTUDE

III.1. Généralités sur les zones humides

La Convention sur les zones humides, signée à Ramsar, en Iran, en 1971, est un traité intergouvernemental qui sert de cadre à l'action nationale et à la coopération internationale pour la conservation et l'utilisation rationnelle des zones humides par des actions locales, régionales et nationales et par la coopération internationale, en tant que contribution à la réalisation du développement durable dans le monde entier

La Convention est entrée en vigueur en 1975 et compte à ce jour 163 parties contractantes, ou États membres, partout dans le monde. Actuellement, les parties ont inscrit sur cette liste plus de 2060 zones humides (ou sites Ramsar) méritant une protection spéciale: elles couvrent 197 millions d'hectares (1,97 million de kilomètres carrés) : plus que la superficie de la France, de l'Allemagne, de l'Espagne, de l'Italie et de la Suisse mises ensemble

L'inscription d'un site sur la Liste de Ramsar lui confère le prestige d'une reconnaissance internationale et représente l'engagement du gouvernement à prendre toutes les mesures nécessaires pour garantir le maintien des caractéristiques écologiques du site en question .

III.1.1. Les zones humides en Algérie

L'Algérie est riche en zones humides, ces milieux qui font partie des ressources les plus précieuses sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle. Les zones humides jouent un rôle important dans les processus vitaux, accueillant une flore importante, des poissons et des oiseaux migrateurs (**Boumezbeur, 2005**).

Le recensement préliminaire effectué au milieu des années 1990 a dénombré 254 zones humides naturelles. Parmi elles, soixante peuvent être classées sur la Liste Ramsar des zones humides d'importance internationale (**Boumezbeur, 2005**).

L'Autorité de la Convention de Ramsar en Algérie, la Direction Générale des Forêts, a classé 26 sites sur la Liste de la Convention de Ramsar des zones humides d'importance

internationale. Deux en 1982, dix en 2001 et 13 en 2003. Avec les seize nouveaux sites classés en 2004, le nombre de zones humides internationales en Algérie a atteint 42 sites avec une superficie de près de 3 millions d'hectares (**Annexe I**), soit 50% de la superficie totale estimée des zones humides en Algérie (**Boumezbeur, 2005**).

La Direction générale des Forêts, ministère de l'Agriculture et du Développement rural de l'Algérie vient d'inscrire cinq (05) nouvelles zones humides d'importance internationale, ce qui porte le total de sites Ramsar du pays à 47. Garaet Timerganine (1 460 hectares, 35°40'N-06° 58'E) est un marais d'eau douce saisonnier, dans la Wilaya d'Oum El Bouaghi, dans le nord-est du pays. Le Marais de Bourdim (11 ha; 36°48'N-08° 15'E), site marécageux et boisé, se trouve dans le Parc national d'El Kala, El Tarf, également dans le nord-est. Sebket Ezzmoul (6 765 ha; 35°53'N-06°30'E) est un lac salin saisonnier situé sur le haut plateau de l'est de l'Algérie. Le lac Boulhilet (856 ha; 35°45'N-06°48'E) est un bassin d'eau douce. La Vallée de l'oued Soummam (12 453 ha; 36° 42' N-05° 00' E) comprend à la fois des marais de montagne et une lagune côtière, dans le nord-est du pays. L'inscription des cinq nouveaux sites et d'autres a bénéficié de l'appui du Programme du WWF International pour les eaux douces.

III.2. Présentation de la zone d'étude

III.2.1. Salines d'Arzew

III.2.1.1. Présentation générale

Les salines d'Arzew ou 'Melhe', font partie sur le plan administratif de la Wilaya d'Oran, Daïra de Bethioua et commune de Bethioua, Boufatis, Aïn Biya et Benfreha et de la wilaya de Mascara. A proximité passent de nombreuses routes, nationales et de wilaya comme la RN N°97 et le CWN°64. Le site s'étend sur une superficie de 5.778 hectares, avec une élévation de 60 mètres (minimum) et 339 mètres (maximum), latitude de 35°40 '00 '' N et longitude de °17'30'' E (**figure N°29**) (**Boumezbeur, 2005**).



Figure N°29: Image satellitaire des salines d'Arzew, wilaya d'Oran (Google earth, 2016).

III.2.1.2. Ecologie de la zone d'étude

Ces milieux plus chauds et salés peuvent abriter des algues et une faune spécifique de crustacés notamment (**Blanchard et Richard 1890**) dont le plus connu est *Artemia salina* (**Ouayache, 2010**), mais on y trouve aussi des copépodes comme *Arctodiaptomus salinus* (**Saadi A & Champeau A 1994**). Ils peuvent parfois aussi abriter des larves de moustiques vectrices de maladies (**Hassaine K, 2014**)

Ils sont aussi caractérisés par des espèces pionnières (**Tremblin, G, 2000**)

Ces espèces peuvent jouer un rôle important dans le réseau trophique loco-régional (**El Madani F, 1998**) et notamment attirer une importante avifaune aquatique (**Baaziz N, 2012**)

III.2.1.3. Type de zone humide

La Fiche descriptive Ramsar demande des détails sur tous les types de zones humides contenus à l'intérieur de Sites Ramsar. Les catégories figurant dans la classification servent de cadre général pour l'identification rapide des principaux types d'habitats de zones humides représentés dans chaque site, avec le « type de zone humide dominant » clairement indiqué. Quarante-deux (42) types de zones humides sont identifiés dans le système et regroupés dans

les catégories suivantes : zones humides « côtières/marines », zones humides « continentales » et zones humides « artificielles » (**Convention de Ramsar, 2013**). (**Annexe II**).

Les salines d'Arzew appartiennent aux catégories des zones humides continentales, et correspondent à une Sebkhia ou lac salé, saisonnier (**figure N°30**).



Figure N°30: Vue globale des Salines d'Arzew (**Adjoudj et Salem, 2013**).

A. Critères de Ramsar pour l'identification des salines d'Arzew

Le texte de la Convention de Ramsar (Article 2.2) (**Annexe III**) stipule :

« Le choix des zones humides à inscrire sur la Liste devrait être fondé sur leur importance internationale au point de vue écologique, botanique, zoologique, limnologique ou hydrologique », « elles devraient être inscrites, en premier lieu, les zones humides ayant une importance internationale pour les oiseaux d'eau en toutes saisons » (**Manuel de la convention de Ramsar, 2013**). Les critères qui caractérisent ces salines sont de type 1 et 6 (**Boumezbeur, 2005**) (**Annexe IV**).

B. Justification des critères

❖ Critère 1

C'est une zone humide qui devrait être considérée comme un site d'importance internationale car c'est un exemple représentatif, rare et unique de type de zone humide naturelle de la région biogéographique méditerranéenne (**Convention de Ramsar, 2013**).

❖ Critère 6

Le site accueille plus de 1% des populations régionales de Tadorne casarca (*Tadorna ferruginea*) avec 1.800 individus en 2004, de Tadorne de Belon (*Tadorna tadorna*) et de Flamant rose (*Phoenicopterus ruber roseus*) en 1997. Il a également et à titre exceptionnel accueilli le 1% international de la population méditerranéenne d'Oie cendrée. (*Anser anser*) dans les années 1980 (**Convention de Ramsar, 2013**).

III.2.1.4. Caractéristiques physique du site (Géomorphologie)

Le site est composé d'amas éolien avec du gypse, le bassin versant a un débit de 10.000 mètres cubes charriés par 2 Oueds importants : Chabet Esseba et Chabet Djanal. Il se situe dans l'étage bioclimatique semi-aride avec une pluviométrie annuelle comprise entre 300 et 400 mm et des températures avec 9°C pour janvier, le mois le plus froid, et 32°C en août, le mois le plus chaud (**Boumezbeur, 2005**).

III.2.1.5. Facteurs du milieu (facteurs écologiques)

A. Valeurs hydrologiques

Les salines d'Arzew jouent un rôle important dans la recharge, le renouvellement et l'alimentation des nappes phréatiques. Les eaux de ruissellement favorisant le captage des sédiments et la prévention contre l'érosion hydrique (**Boumezbeur, 2005**).

B. Caractéristiques écologiques

Le site présente une physionomie monotone d'habitats peu diversifiés caractérisant en général les milieux salés, il fait partie du complexe de zones humides de l'ouest algérien qui englobe principalement la Sebkhia d'Oran, les Marais de la Macta, le Lac Télamine, Dayet Oum El Ghellaz, Dayet Morsli et Dayet Bagra. Ces sites accueillent de grands effectifs

d'oiseaux migrateurs qui les fréquentent soit pendant toute la période d'hivernage soit uniquement aux passages en migration vers des contrées plus au sud et servent également de lieux de nidification (**Boumezbeur, 2005**).



Figure N°31: Sebka d'Arzew: vue d'ensemble du lac salé. A droite, dans le lac, les bassins d'extraction du sel. Proches des marais de la Macta (**webmaster01**).

C. Faune diversifié

L'avifaune est composée de 89 espèces réparties en 7 Anatidés, 5 Ardéidés, 25 Limicoles, 9 Goélands, Mouettes, Sternes et Guifettes, 8 Rapaces et 31 Passereaux. Parmi les oiseaux d'eau, 2 espèces sont prédominantes, le Flamant rose (*Phoenicopterus ruber roseus*) et le Tadorne de Belon (*Tadorna tadorna*) (**tableau N°5**). Le site accueille également des Laridés, il s'agit particulièrement du Goéland leucophée (*Larus cachinnans*) et de la mouette rieuse (*Larus ridibendus*). Les autres espèces sont présentes mais avec des effectifs très modestes. Le site héberge également un nombre important de passereaux et familles apparentées de granivores et d'Alaudidés, Colombidés et de Laniidés (**DGF, 2005**).

D. Flore remarquable

La végétation naturelle halophyle, presque absente, est composée de touffes de *Chamaerops humilis* sur les talus, de *Juncus sp*, *Sueda sp* et de quelques sujets de *Tamarix sp* sur les bords. Dans les endroits où débouchent les ruisseaux ou les rejets d'eaux usées du village voisin, se forment des vasières entourées d'une végétation herbacée. Sur les berges sèches on rencontre des sansouires, végétation salée inondée au gré des précipitations et couvertes de salicornes (*Salicornia et Arthrocnemu*) (DGF, 2005).

Tableau N°4: Recensement hivernal des espèces focales.

Nom commun	Nom scientifique	197 2	197 8	199 5	200 3	200 4
*Flamant rose	<i>Phoenicoptero ruber</i>	-	2.00		320	630
*Tadornes de Belon	<i>Tadorna tadorna</i>		0		670	-
* Tadorne asarca	<i>Tadorna ferruginea</i>	-	-	2.65		1.8
		110		0		00
			-		-	

(DGF, 2005).

Tableau N°5 : Recensement hivernal des oiseaux d'eau (2003-2004).

Nom commun	Nom scientifique	2003	2004
Flamant rose	<i>Phoenicopterus ruber</i>	320	630
Tadorne casarca	<i>Tadorna ferruginea</i>	670	1.800
Tadorne de belon	<i>Tadorna tadorna</i>	280	-
Canard colvert	<i>Anas platyrhynchos</i>	635	-
Canard siffleur	<i>Anas penelope</i>	1.240	-
Canard souchet	<i>Anas clypeata</i>	-	130
Grue cendrée	<i>Grus grus</i>	-	13
Grand gravelot	<i>Charadius hiaticula</i>	-	210
Petit gravelot	<i>Charadius dubius</i>	-	80
Gravelot à collier interrompu	<i>Charadius alexandrinus</i>	-	100
Chevalier arlequin	<i>Tringa erythropus</i>	-	200
Chevalier gambette	<i>Tringa totanus</i>	-	360
TOTAL		3.145	3.523

(DGF, 2005).

III.2.1.6. Valeurs sociales et culturelles

Les unités des salines d'Arzew produisent près de 80.000 tonnes de sel par an. L'agriculture et l'élevage sont des activités très présentes aux alentours du site (DGF, 2005).

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I

MATÉRIEL

I. MATERIEL

I.1. Matériel biologique

Pour la micro algue *Dunaliella salina*, la souche sujette de notre travail provient de la saline d'Arzew, elle nous a été fournie par les étudiants de la promotion précédente de la post-graduation de la même spécialité, cette souche et conservé dans le laboratoire de PBA depuis le mois de mai 2013 à nos jour, la même souche prélevé de la saline d'Arzew a fait sujet d'un travail présenté par Adjoudj et Salem.

Coordonnés géographiques des sites étudiés :

❖ **Salines d'Arzew** : 35°33'26, 30'N 0°49'17, 85 O (élévation 78m, altitude 78m).

Notre travail a été réalisé sur un échantillon prélevé localement (saline d'Arzew),

Les échantillons d'eau salée des salines d'Arzew (**figure N°32**).

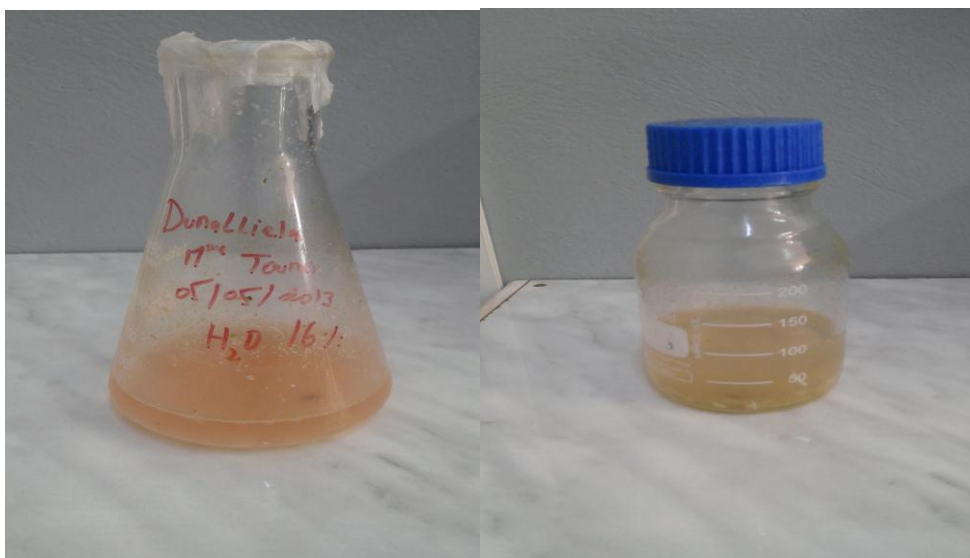


Figure N°32: Les échantillons conservé au laboratoire PBA (Doukani, 2016)..

I.2. Matériel non biologique

Les expériences sont effectuées dans les laboratoires de PBA (Partisano Biotech Algerie) une des sociétés du groupe Hasnaoui, qui dispose d'un petit laboratoire de préparation des échantillons qui contient une banque de souche en plus d'un équipement de laboratoire adaptée a notre travaille, citant les équipements illustrée dans les figure de N°33 a N° 44.



Figure N°33 Microscope optique
a contraste de phase



Figure N°34: Etuve
(Doukani, 2016).



Figure N°35: Rampe de filtration six tête en inox
(Doukani, 2016).



Figure N°36: Multi paramètre HANNA
(Doukani, 2016)



Figure N°37: Balance Analytique



Figure N°38: Balance Désicatrice

(Doukani, 2016)



Figure N°39: Divers Verreries



Figure N°40: Divers Verreries

(Doukani, 2016)



Figure N°41: Photobioéacteur Cyclindrique double tube(Doukani, 2016)



Figure N°42: Photobioéacteur plat Ep 40 mm (Doukani, 2016)



Figure N°43: Montage Expérimental (Doukani, 2016)

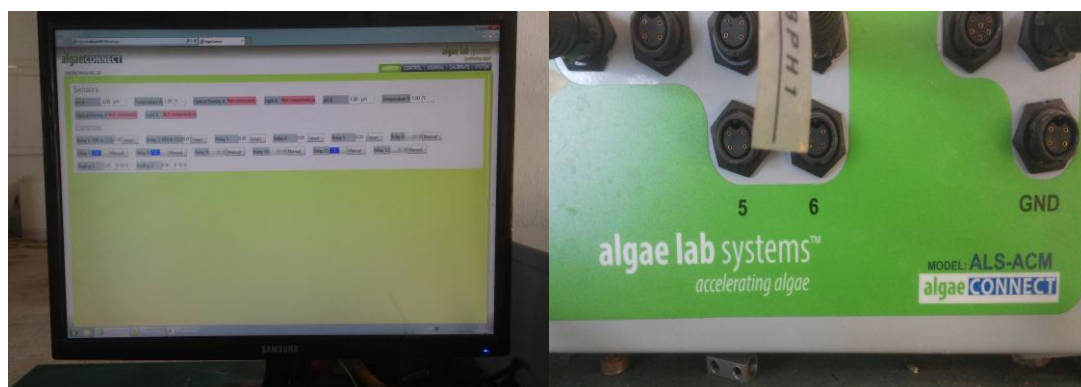


Figure N°44: Système de contrôle de paramètre (Doukani, 2016)

CHAPITRE II

MÉTHODES

II.Méthode

II.1.Culture de *dunalliella salina*

Dunaliella salina, Chlorophycée unicellulaire halotolérante qui vit dans les salines, est capable d'accumuler du β carotène naturelle, dix fois plus actif que le β carotène de synthèse. Ce pigment est utilisé dans différents domaines alimentaires, cosmétiques et pour la santé (**Krinsky et Johnson, 2005**). C'est pour cette raison que plusieurs recherches ont été menées pour étudier ses effets.

Le choix s'est porté sur l'optimisation des conditions de production de la biomasse microalgale par la méthode des plans d'expérience, et cela pour déterminer les meilleures conditions de développement et de production de la biomasse.

II.1.1.Origine du matériel végétal

La souche de microalgue étudiée dans ce travail a été isolée et sélectionnée à partir d'un échantillon fourni par les étudiants de la promotion précédente de la post-graduation de la même spécialité.

Un des objectifs initiaux de ce travail était de cultiver une souche endémique des salines d'Arzew dans laquelle le site de l'ENASEL est implanté.

La souche est isolée dans les salines d'Arzew elle a été préservée sous son état stressé au laboratoire de PBA. Elle a été mise en culture et étudiée au même laboratoire au niveau de l'installation pilote à Sidi Bel Abbès.

Récemment, pour revenir sur l'objectif d'utilisation d'une souche locale, un nouvel isolement a été réalisé sur des eaux des salines d'Arzew pour répéter les expériences.

II.1.2.Conservation des échantillons

Pour des expériences en laboratoire ou plus encore des expériences en climat contrôlé, il s'avère souvent nécessaire de stocker certains échantillons pour regrouper les mesures, dans l'optique d'optimiser le temps de manipulation.

Devant ce constat, une étude de conservation des propriétés des échantillons a été réalisée afin de préciser les protocoles de manipulation. Cette étude a porté sur le pH, la

salinité et la concentration cellulaire, Pour cela on a conservé les échantillons a analyser à l'obscurité dans une glacière à environ 10°.

Pour la conservation de l'échantillon original, on a provoqué les conditions de stress ce qui va conduire cette microalgue à s'enkyster et à synthétiser de la β -carotène et de la glycérine pour résister a la pression osmotique exercé sur les cellules, ce stress se traduit principalement par l'augmentation de la salinité pour arriver à 36%.

II.1.3. Milieux de culture

Divers milieux de culture ont été utilisés. Le choix de la composition de ces milieux a évolué en fonction des expériences et de l'avancée des travaux de recherches. Quel que soit le milieu de culture utilisé, il est complété avant inoculation par ajout d'un milieu nutritif.

Les expériences répétées nous ont conduit à choisir le milieu de culture Johnson.

Les principales concentrations ioniques des divers milieux utilisés sont proposées Il faut noter qu'on utilise des eaux et saumures synthétiques, les sels sont dissous dans de l'eau du robinet qui contient certains oligoéléments nécessaires à la culture, absents bien entendu dans l'eau déminéralisée habituellement utilisée. Avant inoculation, les milieux synthétiques sont conservés et agités pendant au moins 48 h pour s'assurer de la dégradation du chlore résiduel de l'eau du réseau, ainsi que de la bonne dissolution des sels ajoutés. L'augmentation des concentrations de nitrate sont assurées par l'ajout de quantité de nitrate de potasse KNO_3 .

II.1.4. Milieu nutritif de Johnson

Divers milieux nutritifs sont utilisés dans la littérature pour cultiver *D. salina*. Dans ce travail, le milieu dit de « Johnson » a été choisi. Sa formulation est proposée en tableau qui suit. Dans ce milieu, l'azote est apporté sous forme de nitrates et le phosphore sous forme de phosphates.

Tableau N°6. Milieu Johnsons Modifié (J/I) (Borowitzka, M.A., 1988).

pour 980 ml d'eau de robinet rajouter:	
NaCl	Selon la salinité voulu
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1.5 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
KCl	0.2 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2 g
KNO ₃	1.0 g
NaHCO ₃	0.043 g
KH ₂ PO ₄	0.035 g
Fe-solution	10 ml
Trace-element solution	10 ml
solution Fe (pour 1 litre)	
Na ₂ EDTA	189 mg
FeCl ₃ ·6H ₂ O	244 mg
solution de micro-élément (pour 1 litre)	
H ₃ BO ₃	61.0 mg
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	38.0 mg
CuSO ₄ ·5H ₂ O	6.0 mg
CoCl ₂ ·6H ₂ O	5.1 mg
ZnCl ₂	4.1 mg
MnCl ₂ ·4H ₂ O	4.1 mg
Ajuster le pH a 7.5 avec HCl	

II.1.5.Mise en place de la plateforme de culture en laboratoire

En plus des milieux de culture et nutritif, les cultures microalgales nécessitent un contenant, de la lumière et de l'agitation. Une plateforme de culture, intégrant ces éléments, a été développée en début d'étude.

La plateforme se compose d'un réacteur cylindrique composé de deux tube l'un induit dans l'autre ce qui procure une épaisseur fluide de 10 cm, éclairer centralement par un système d'éclairage composé de huit tube a LED lumière du jour.

Ce réacteur nous permet de pré-concentrer la culture avant d'inoculer les quatre réacteurs plat d'une épaisseur de 40 mm chacun et d'une surface de 1 m².

La souche avant d'être placer dans le réacteur de pré-concentration passe par des étapes de réactivation en éliminant progressivement l'état de stress en diminuant la salinité.

En prenant 10 ml de l'échantillons originale vers un ballon de 1 litre avec aération, puis progressivement en fonction de la coloration du la culture on va augmenter le volume a

cinq litre, dans un ballon de 10 litre, comme illustré dans le **Figure N°45** qui suit, une fois la concentration arrivée au maximum la culture est transférer à l'intérieur d'un réacteur cylindrique composé de deux tubes l'un induit dans l'autre pour laisser un flux qui s'écoule entre les deux tube ,a l'intérieur du petit tube sont introduit huit tube a LED de dernière génération, arriver à une certaine concentration qui empêche l'oxydation par la lumière en devise le contenu du réacteur cylindrique en quatre part égaux pour commencer les expérience au même temps.

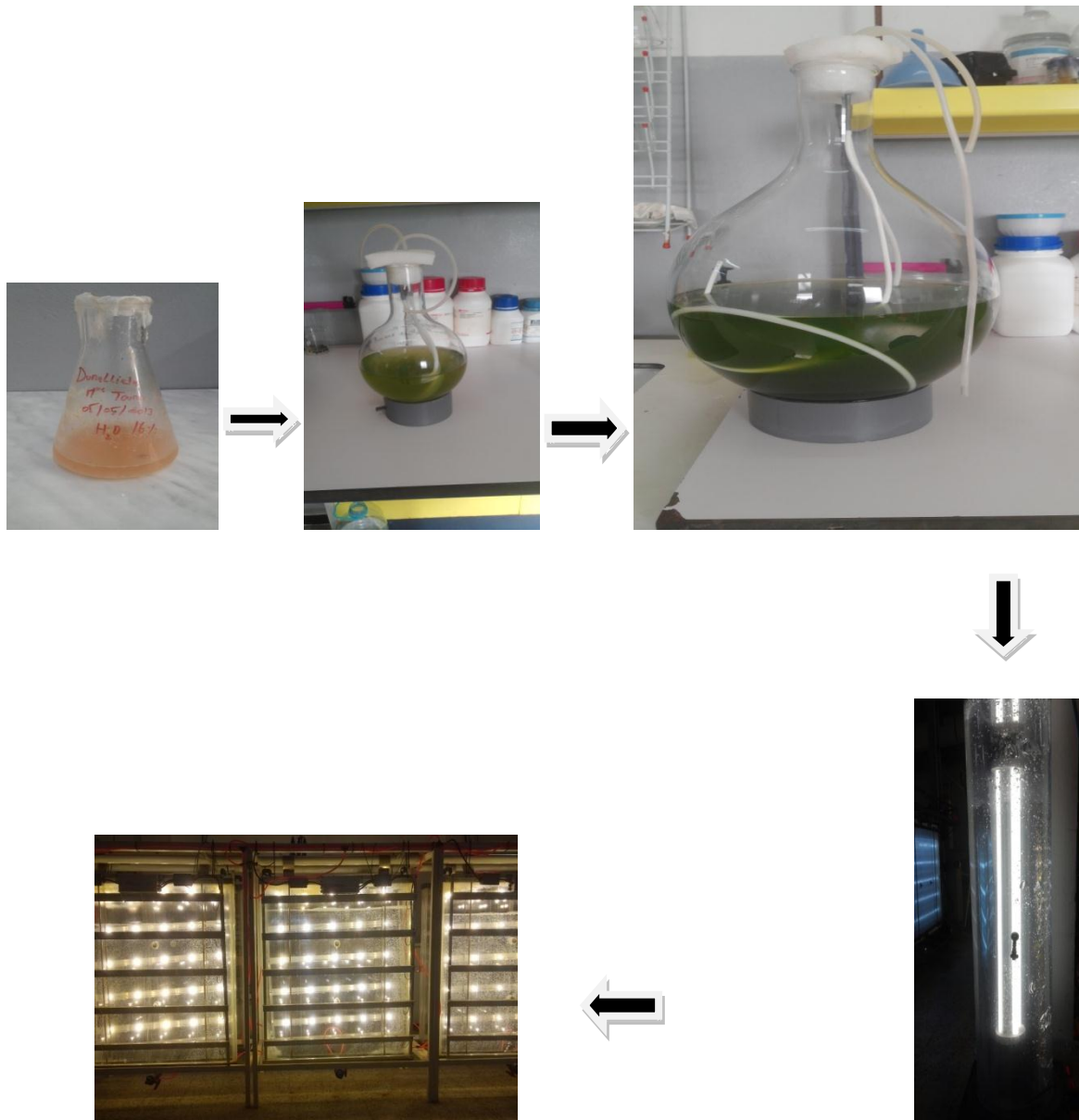


Figure N°45 : Les différentes étapes de la concentration de la culture

II.1.6. Procédure de suivi des cultures en laboratoire

La procédure de suivi des cultures au L.PBA a été standardisée durant cette étude. Un modèle de tableur Excel regroupant l'ensemble des paramètres de suivi a été réalisé. Ce modèle de tableur se compose de plusieurs onglets contenant les informations suivantes :

1. Inoculation : dates et heures, souches, origines des inocula, volumes de culture, milieux de culture, milieux nutritifs, types d'agitations, d'éclairages et de PBR.

2. Salinité : suivis journaliers des salinités dans les PBR + graphiques.

3. Température : suivis des températures dans les PBR + graphiques.

4. Comptage : comptages journaliers + graphiques.

5. Intensité lumineuse : suivis des intensité sur les plaques à LED dans les PBR + graphiques.

6. Concentration de Nitrate : suivis journaliers (tous les deux heures) des concentrations dans les PBR + graphiques

7. Lame fraîche : Observations des cultures en lames fraîches, contaminations éventuelles, Mobilités des algues, . . .

8. pH : suivis pH permanents ou relevés journaliers + graphiques.

Selon les besoins de l'expérience en cours et le temps disponible, cette procédure de suivi a été plus ou moins simplifiée.

9. Concentration de la Biomasse : tous les deux jours + graphiques.

II.1.7. Maturation des cultures

Dans la filiale, pour maitre en valeur *Dunaliella salina* elle nécessitait une mise en carence des cultures avant récolte. Dans la littérature, la mise en carence d'azote est la plus étudiée et semble-t-il la plus efficace en ce qui concerne notamment l'accumulation de caroténoïdes.

La récolte s'effectuant après 20 jour de culture avant cette phase de mise en carence, il a été jugé nécessaire de négliger cette étape dite de maturation des cultures, dans l'optique de produire de la biomasse représentative de celle à récolter.

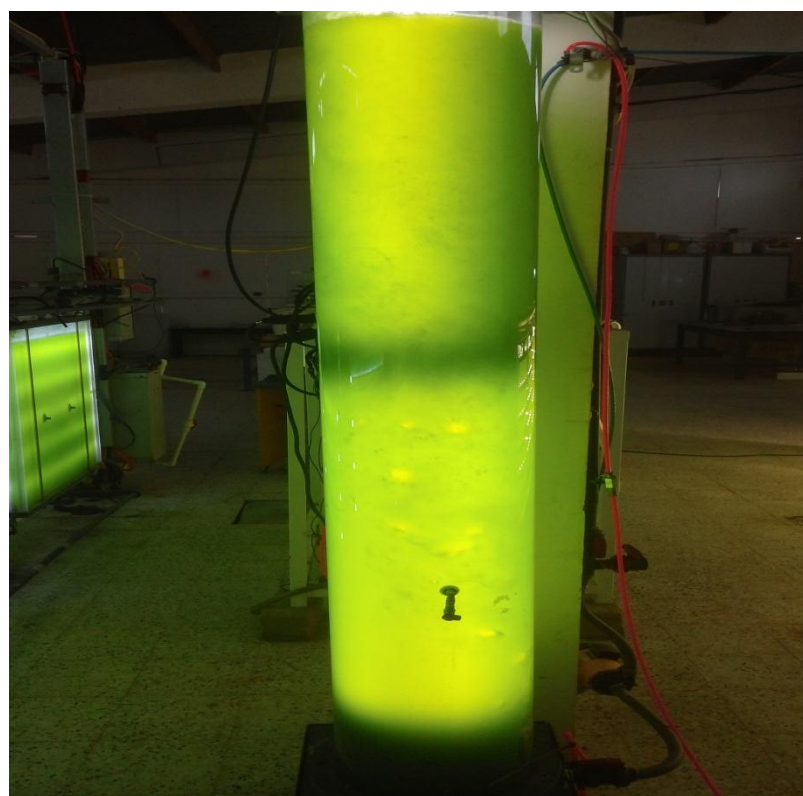


Figure N°46: Le réacteur cylindrique en pleine production

(Doukani 2016)

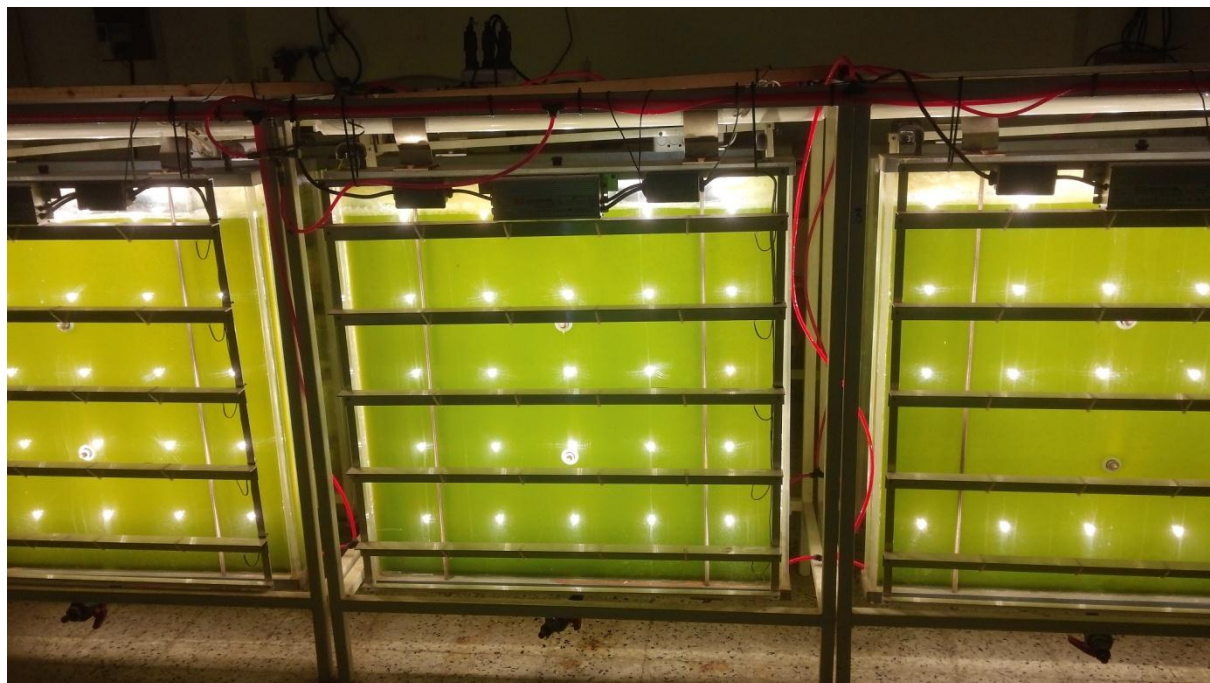


Figure N°47: Les réacteurs plats en pleine production

(Doukani 2016)

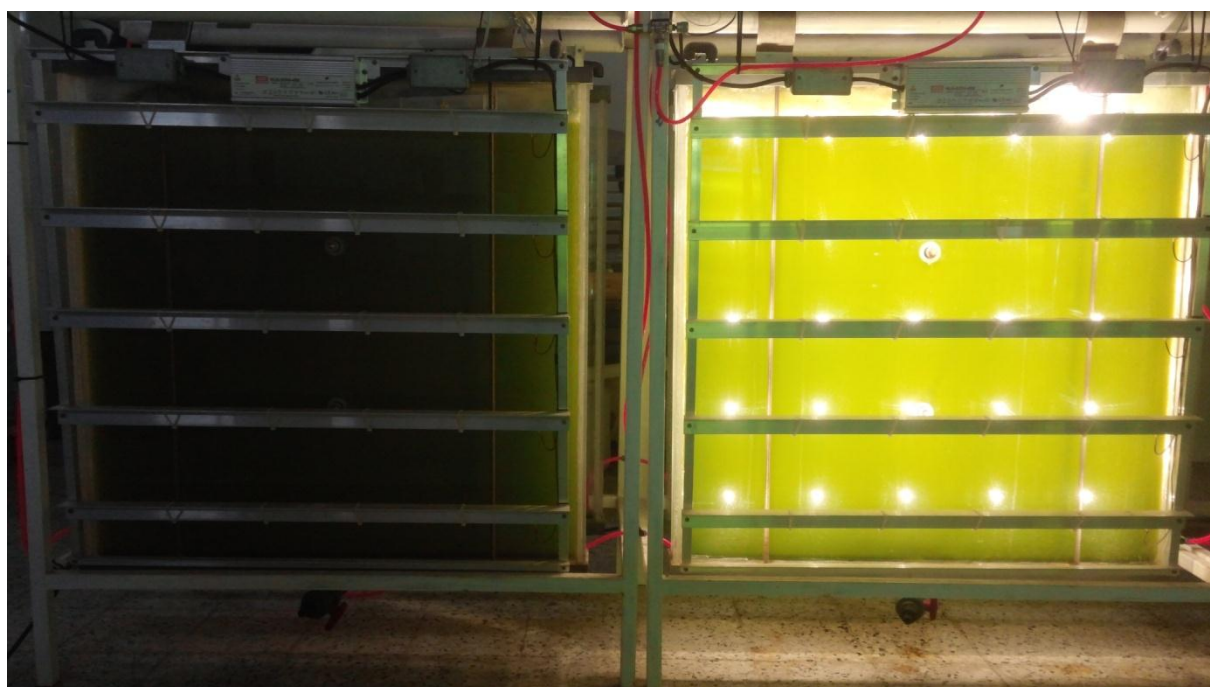


Figure N°48: deux réacteurs plat un illuminé et l'autre obscure

(Doukani 2016)

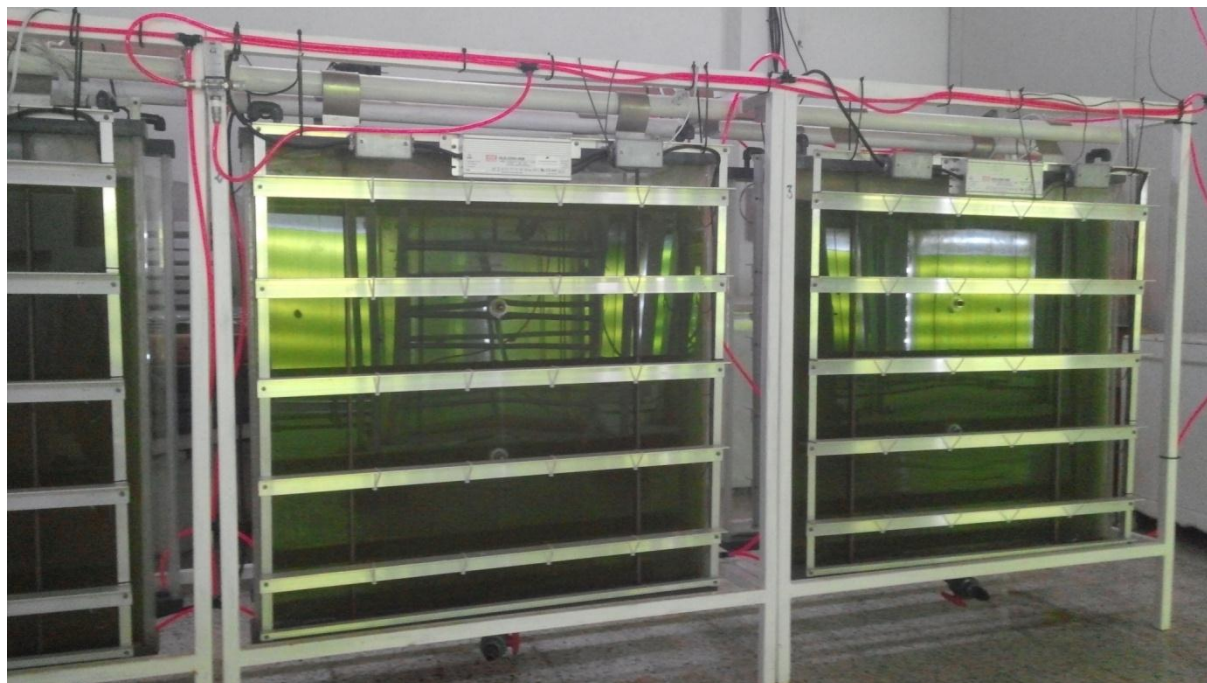


Figure N°49: Le diapositive en face obscure

(Doukani 2016)

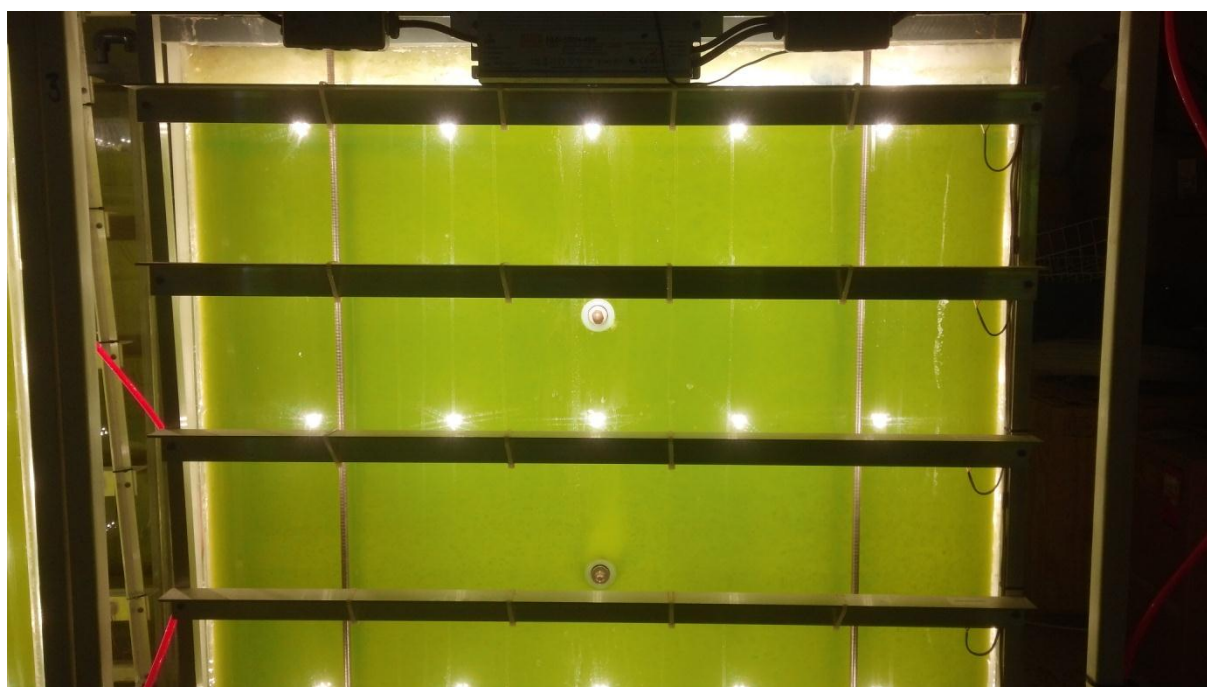


Figure N°50: un réacteur iluminé.

(Doukani 2016)

II.2. Les Plans D'expériences:

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles . Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y , et des variables, x_i . Il faut penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type :

$$y=f(x_i)$$

Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse . Il existe de nombreux plans d'expériences adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur. Les principes fondamentaux de cette science seront indiqués et les principaux plans seront passés en revue.

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle *d'espace expérimental* et celle de *modélisation mathématique* des grandeurs étudiées.

II.2.1. Notion d'espace expérimental

Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur s'appelle la *réponse*, c'est la grandeur d'intérêt. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables. Au lieu du terme «variable» on utilisera le mot *facteur*. La réponse dépend donc de un ou de plusieurs facteurs. Le premier facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté (**Figure 51**). La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée *niveau*. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas. La borne supérieure est le niveau haut.

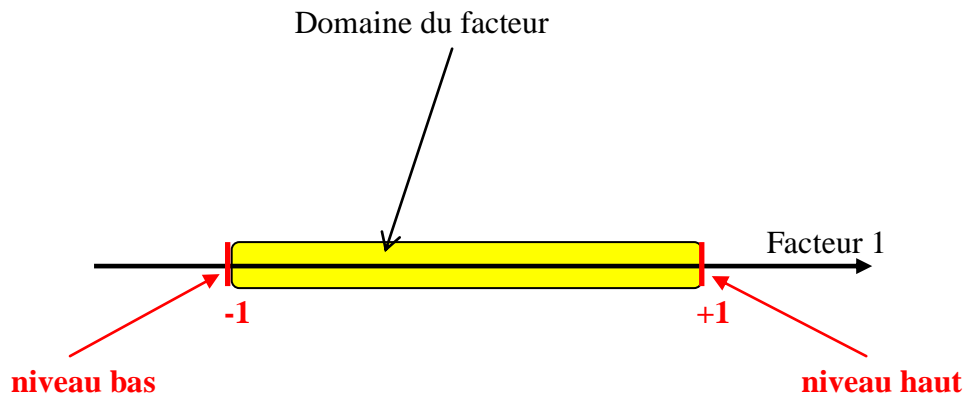


Figure 51 : Le niveau bas du facteur est noté par -1 et le niveau haut par $+1$. Le domaine de variation du facteur est constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas et le niveau haut.

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le *domaine* du facteur. On a l'habitude de noter le niveau bas par -1 et le niveau haut par $+1$.

S'il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. On définit, comme pour le premier facteur, son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé *l'espace expérimental* (Figure 52).

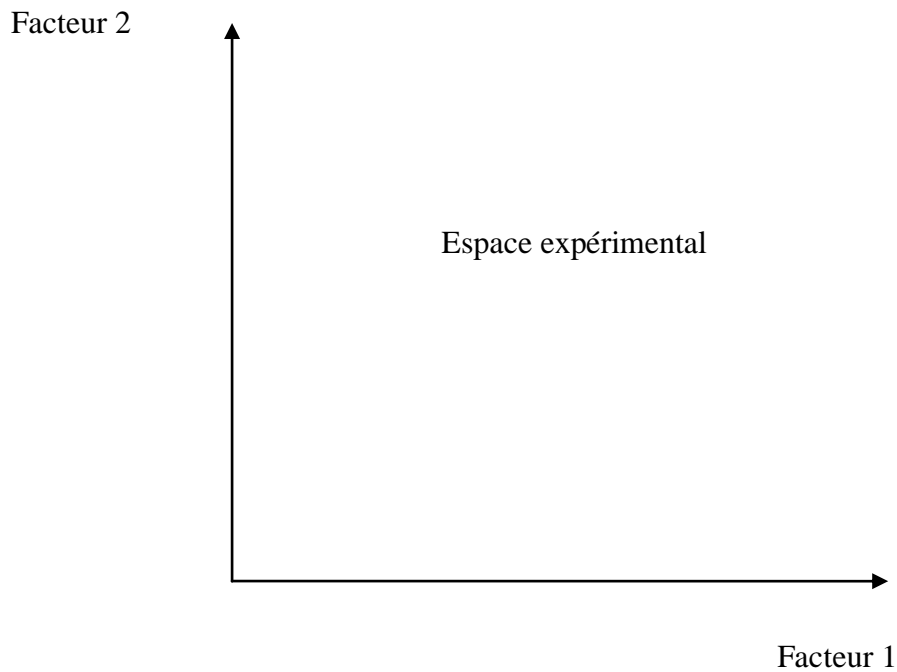


Figure 52 : Chaque facteur est représenté par un axe gradué et orienté. Les axes des facteurs sont orthogonaux entre eux. L'espace ainsi défini est l'espace expérimental.

Le niveau x_1 du facteur 1 et le niveau x_2 du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental (**Figure 53**). Une expérience donnée est alors représentée par un point dans ce système d'axes. Un plan d'expériences est représenté par un ensemble de points expérimentaux.

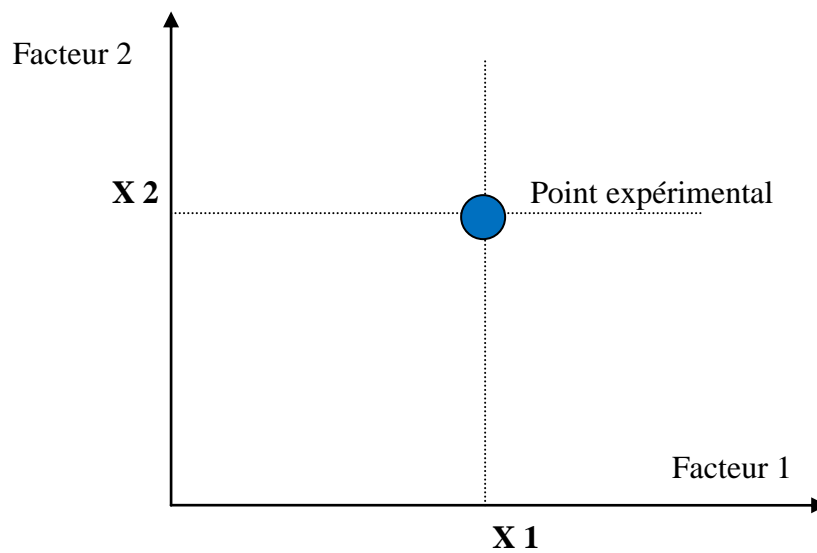


Figure 53 : Dans l'espace expérimental, les niveaux des facteurs définissent des points expérimentaux.

Le regroupement des domaines des facteurs définit le «*domaine d'étude*». Ce domaine d'étude est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude (**Figure 54**).

Cette façon de représenter une expérimentation par des points dans un espace cartésien est une représentation géométrique de l'étude.

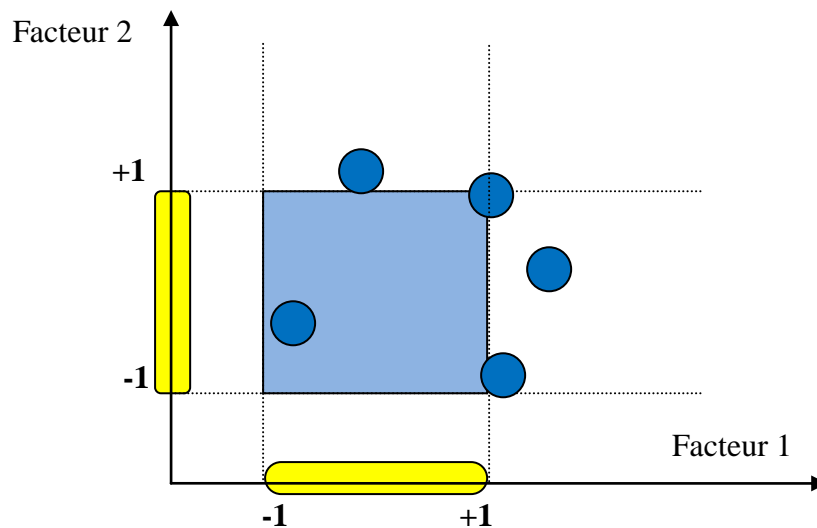


Figure 54 : Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur.

Les définitions qui ont été données s'appliquent bien aux variables continues. Mais il existe d'autres types de variables. Il y a les variables discrètes comme par exemple des personnes : Julien, Arthur, Louis, Simon et Nathan. On peut encore parler d'espace expérimental mais il n'aura pas les mêmes propriétés que l'espace des variables continues. Il y a également les grandeurs ordonnables comme, par exemple, des distances qui peuvent être courtes, moyennes et longues. Là aussi, la notion d'espace expérimental existe toujours mais cet espace possède des propriétés différentes des deux premiers.

II.2.2. Notion de surface de réponse

Les niveaux x_i représentent les coordonnées d'un point expérimental et y est la valeur de la réponse en ce point. On définit un axe orthogonal à l'espace expérimental et on l'attribue à la réponse. La représentation géométrique du plan d'expériences et de la réponse nécessite un espace ayant une dimension de plus que l'espace expérimental. Un plan à deux facteurs

utilise un espace à trois dimensions pour être représenté : une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs.

A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la surface de réponse .

Le nombre et de l'emplacement des points d'expériences est le problème fondamental des plans d'expériences. On cherche à obtenir la meilleure précision possible sur la surface de réponse tout en limitant le nombre d'expériences.

II.2.3. Notion de modélisation mathématique

On choisit a priori une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs. On prend un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurin. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé.

II.2.4. Analyse de la variance

L'analyse de la variance est appelé « Analysis of Variance » dans la littérature anglosaxonne ; son appellation est couramment abrégée en ANOVA. Contrairement à ce que laisse penser son nom, l'analyse de variance n'étudie pas les différences de variances entre populations mais les différences de moyenne. Cette méthode doit son nom au fait qu'elle utilise des mesures de variance afin de juger du caractère significatif ou non, c'est-à-dire de la significativité des différences de moyenne mesurées entre populations. Il s'agit d'une généralisation à p populations du classique test de comparaison de deux échantillons, le célèbre test de t de Student. D'une façon générale, en matière de régression, le principe de l'analyse de la variance est de subdiviser la variation totale en une composante factorielle relative à l'équation de régression ou au modèle utilisé, et une composante résiduelle, la première devant être testée par rapport à la deuxième . Les composantes factorielle et résiduelle seront mathématiquement représentées par des carrés moyens, c'est-à-dire des variances. En définitive, l'intérêt de l'analyse de la variance est de pouvoir tester de manière absolue l'influence des facteurs sur les variations d'une réponse donnée .

II.2.5. Calcul du carré moyen des facteurs et des interactions

La variance des facteurs s'obtient en calculant la somme des carrés des écarts (*SCE*) que l'on divise par le nombre de degré de liberté (*ddl*) associés au facteur *f* considéré. • Pour les facteurs : Le nombre de *ddl* associés à un facteur *f* correspond à son nombre de modalité (nombre de valeurs distinctes que l'on prend lors de la réalisation du plan) minoré de 1, soit :

$$ddl_f = Nn_f - 1$$

Avec Nn_f le nombre de modalité du facteur *f*.

• Pour les interactions :

Le nombre de *ddl* associés à une interaction de facteur correspond au produit des *ddl* des facteurs mis en jeu dans cette interaction, soit :

$$ddl_{fg...l} = ddl_f \times ddl_g \times \dots \times ddl_l$$

CONCLUSION

Conclusion

Les conditions de culture pour la production de la biomasse pour l'algue halophyte *Dunaliella Salina*, ont été optimiser en utilisant une méthodologie de plants d'expériences qui consiste à la suite ordonnée d'essais d'une expérimentation, chacune permettant d'acquérir de nouvelles connaissances en contrôlant un ou plusieurs paramètres d'entrée pour obtenir des résultats validant un modèle avec une bonne économie. Pour étudier les effets du changement des valeurs de paramètre agissant sur la croissance, la température, la salinité, intensité lumineuse et concentration de nitrate sur la production de la biomasse.

Les conditions de croissance optimale déduites de l'analyse de ces expériences sont:

20°C pour la température

18000 lux pour l'intensité lumineuse

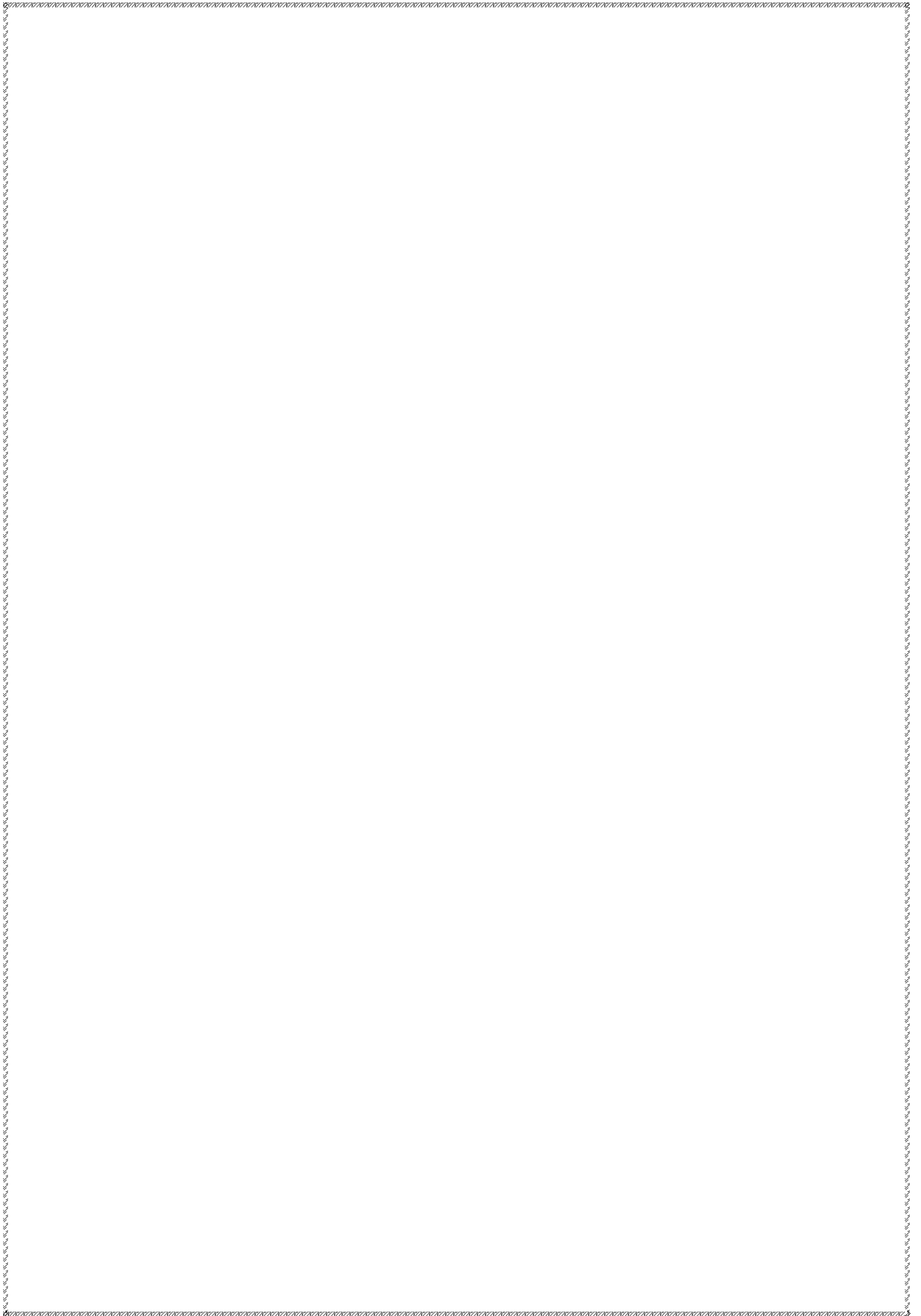
45 gr/l pour la salinité

50 mg/l pour la concentration de nitrate

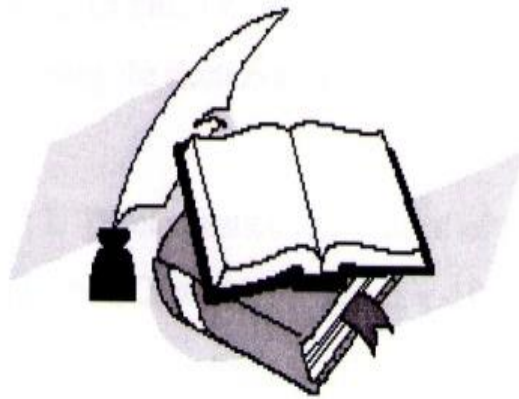
La culture de micro-algues avec les conditions optimisées ont confirmé que les réponses maximaux ont été atteint pour ces facteurs .La réponse a atteint le maximum au bout du 16^{eme} jour pour atteindre 6.02 gr/l.

Ceci nous a permis aussi de tirer les facteurs agissant de façon directe sur la réponse (la production de la biomasse), et l'interaction de ces facteurs et de ces actions sur la productivité de cette algue.

La production de la biomasse et une opération dynamique, ce travail nous a permis de déterminer l'importance de chaque facteur ainsi que les interactions entre facteur. Pour pouvoir améliorer cette étude en devra procéder à une étude dynamique qui prennent en compte le rythme de croissance. Pour cela en utilisera le contrôle en temps réels de ce phénomène.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- Aasen, a. J., eimhjellen, k. E., & liaaen-jensen, s. 1969.** An extreme source of betacarotene.
- Amaro, helena m., guedes, a., & malcata, f. Xavier. 2011.** Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy*, 88(10), 3402–3410.
- Aminot, alain, & kerouel, roger. 2004.** *Hydrologie des ecosystèmes marins : paramètres et analyses.* Editions Quae.
- Arbelaez, Javier, Koopman, Ben, & Lincoln, E. P. 1983.** Effects of Dissolved Oxygen and Mixing on Algal Autofloatation. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 55(8), 1075–1079.
- Avron, mordhay, & ben-amotz, ami. 1978 (Sept.).** Production Of Glycerol From Algae. Brevet US4115949.
- Ayoub, george m., & koopman, ben. 1986.** Algal Separation by the Lime-Seawater Process. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 58(9), 924–931.
- Azachi, M., Sadka, A., Fisher, M., Goldshlag, P., Gokhman, I., & Zamir, A. 2002.** Salt induction of fatty acid elongase and membrane lipid modifications in the extreme halotolerant alga *Dunaliella salina*. *Plant physiology*, 129(3), 1320.
- Azarian, G. H, Mesdaghinia, A. R, Vaezi, F., Nabizadeh, R., & Nematollahi, D. 2007.** Algae removal by electro-coagulation process, application for treatment of the effluent from an industrial wastewater treatment plant. *Iranian Journal of Public Health*, 36(4), 57–64.
- Babel, Sandhya, & Takizawa, Satoshi. 2011.** Chemical pretreatment for reduction of membrane fouling caused by algae. *Desalination*, 274(1-3), 171–176.
- BENEMANN, J. R. 1997.** CO₂ mitigation with microalgae systems. *Energy conversion and management*, 38, S475–S479.
- Benemann, J. R., Koopman, B. L., Weissman, J. C., Eisenberg, D. M., & Goebel, R. P. 1980.** Development of microalgae harvesting and high rate pond technology. *Algal Biomass*, 457–499.
- Borodyanski, genady [il], & konstantinov, irina [il]. 2002 (June).** Microalgae separator apparatus and method. Brevet US2002079270 (A1).
- Borowitzka, L. J. 1991.** Development of Western biotechnology algal beta-carotene plant. *Bioresource Technology*, 38(2-3), 251–252.
- Borowitzka, L. J., & Borowitzka, M. A. 1989.** Beta-carotene (provitamin A) production with algae. Pages 15—26 of : *Biotechnology of Vitamins, Pigments and Growth Factors.* Springer Netherlands.
- Borowitzka, L. J, Borowitzka, M. A, & Moulton, T. P. 1984.** The mass-culture of

Dunaliella-salina for fine chemicals - from laboratory to pilot-plant. *Hydrobiologia*, 116(SEP),115–121.

Borowitzka, M. A. 1992. Algal growth media and sources of algal cultures. *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press, Great Britain, 456–465.

Borowitzka, M. A. 1994. Large-scale algal culture systems : the next generation. *Australas Biotechnol*, 4(4), 212–5.

Borowitzka, M. A. 1997. Microalgae for aquaculture : Opportunities and constraints. *Journal of Applied Phycology*, 9(5), 393–401.

Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae : ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, 70(1-3), 313–321.

Borowitzka, Michael A. 2013. Energy from Microalgae : A Short History. Pages 1–15 of :

Brennan, L., & Owende, P. 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 557–577.

Brown, Malcolm R., Dunstan, Graeme A., Norwood, Suzanne. J., & Miller, Kelly A. 1996. Effects of Harvest Stage and Light on the Biochemical Composition of the Diatom *Thalassiosira Pseudonana*1. *Journal of Phycology*, 32(1), 64–73.

Cadoret, Jean-Paul, & Bernard, Olivier. 2008. La production de biocarburant lipidique avec des microalgues - promesses et defis. *Journal de la Societe de Biologie*, 202(3), 201–211.

Castrillo, M., Lucas-Salas, L.M., Rodriguez-Gil, C., & Martinez, D. 2013. High pH induced flocculation-sedimentation and effect of supernatant reuse on growth rate and lipid productivity of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 128(0),324–329.

Cheng, Kuan-Chen, & Ogden, Kimberly L. 2011. Algal Biofuels : The Research. *Chemical Engineering Progress*, 107(3), 42–47.

Cheng, Y. L, Juang, Y. C, Liao, G. Y, Ho, S. H, Yeh, K. L, Chen, C. Y, Chang, J. S, Liu, J. C, & Lee, D. J. 2010. Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 101(23), 9092–9096.

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306.

Chisti, Yusuf, & Yan, Jinyue. 2011. Energy from algae : Current status and future trends : Algal biofuels - A status report. *Applied Energy*, 88(10), 3277–3279.

Christenson, Logan, & Sims, Ronald. 2011 (Aug.). Rotating Bioreactor and Spool Harvester Apparatus for Biomass Production. Brevet US20110217764 (A1).

- Clift, R., Grace, J. R., & Weber, M. E. 1978.** Bubbles, drops, and particles. Vol. 3. Academic press New York.
- Copin-Montegut, Gerard. 1996.** Equilibre acides-bases dans la solution eau de mer. In : Physique et chimie marines.
- Copin-Montegut, Gerard. 2002.** Propriétés physiques de l'eau de mer. Ed. Techniques Ingénieur.
- Das, Keshav C., Chinnasamy, Senthil, Shelton, James, Wilde, Susan B., Haynie, Rebecca S., & Herrin, James A. 2011 (Feb.).** Algal lipid harvest using mollusks for biofuels production.
- De Philippis, R., Sili, C., Paperi, R., & Vincenzini, M. 2001.** Exopolysaccharide-producing cyanobacteria and their possible exploitation : a review. *Journal of Applied Phycology*, 13(4), 293–299.
- De Rijk, Sander E., Jaap H.J.M. aivan der, Graaf, & den Blanken, Jan G. 1994.** Bubble size in flotation thickening. *Water Research*, 28(2), 465–473.
- De Windt, Laurent, Van der Lee, Jan, & Schmitt, Jean-Michel. 2005.** Modélisation en géochimie des eaux. Ed. Techniques de l'Ingénieur.
- Del Campo, J. A, Garcia-Gonzalez, M., & Guerrero, M. G. 2007.** Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production : current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(6), 1163–1174.
- Demirbas, A. 2010.** Use of algae as biofuel sources. *Energy Conversion and Management*, 51(12), 2738–2749.
- Dickson, Andrew G., & Goyet, Catherine. 1994.** Handbook of Methods for the Analysis of the Various Parameters of the Carbon Dioxide System in Sea Water. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory.
- Dong, Longying, Drury, Kenneth K, & Fadeev, Andrei. 2010.** Methods for harvesting microalgae using ceramic membrane filters.
- Edwards, M., & Benjamin, M. M. 1992.** Effect of preozonation on coagulant-NOM interactions. *Journal-American Water Works Association*, 84(8), 63–72.
- Elmaleh, S., Coma, J., Grasmick, A., & Bourgade, L. 1991.** Magnesium induced algal flocculation in a fluidized bed. *Water Science & Technology*, 23(7-9), 1695–1702.
- Ferguson, C., Logsdon, G. S, & Curley, D. 1995.** Comparison of dissolved air flotation and direct-filtration. *Water Science and Technology*, 31(3-4), 113–124.

- Fleming, R. H., & Revelle, R. 1939.** Physical processes in the ocean. Recent Marine Sediments, Amer. Assoc. Petrol. Geol, 48–141.
- Folkman, Yair, & Wachs, Alberto M. 1973.** Removal of algae from stabilization pond effluents by lime treatment. Water Research, 7(3), 419–435.
- Fournier, Real. 2008.** Concentrated aqueous suspensions of microalgae.
- Frappart, M., Jaffrin, M. Y, Ding, L. H, & Espina, V. 2008.** Effect of vibration frequency and membrane shear rate on nanofiltration of diluted milk, using a vibratory dynamic filtration system. Separation and Purification Technology, 62(1), 212–221.
- Gao, Baoyu, Zhu, Xiaobiao, Xu, Chunhua, Yue, Qinyan, Li, Weiwei, & Wei, Jincheng. 2008.** Influence of extracellular polymeric substances on microbial activity and cell hydrophobicity in biofilms. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 83(3), 227–232.
- Gao, S. S, Du, M. A, Tian, J. Y, Yang, J. Y, Yang, J. X, Ma, F., & Nan, J. 2010.** Effects of chloride ions on electro-coagulation-flotation process with aluminum electrodes for algae removal. Journal of Hazardous Materials, 182(1-3), 827–834.
- Garcia-Gonzalez, M., Moreno, J., Canavate, J. P, Anguis, V., Prieto, A., Manzano, C., Florencio, F. J, & Guerrero, M. G. 2003.** Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. Journal of Applied Phycology, 15(2-3), 177–184.
- Garg, Sourabh, Li, Yan, Wang, Liguang, & Schenk, Peer M. 2012.** Flotation of marine microalgae : Effect of algal hydrophobicity. Bioresource Technology, 121(0), 471–474.
- Ghernaout, B., Ghernaout, D., & Saiba, A. 2010.** Algae and cyanotoxins removal by coagulation/flocculation : A review. Desalination and Water Treatment, 20(1-3), 133–143.
- Ginzburg, M. 1987.** *Dunaliella* - a green-alga adapted to salt. Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology, 14, 93–183.
- Giordano, M., & Bowes, G. 1997.** Gas exchange and C allocation in *Dunaliella salina* cells in response to the N source and CO₂ concentration used for growth. Plant Physiology, 115(3), 1049–1056.
- Gonzalez, M. A., Gomez, P. I., & Polle, J. E. W. 2009.** Taxonomy and phylogeny of the genus *Dunaliella*. In the book : The Alga *Dunaliella* - Biodiversity, Physiology, Genomics, and Biotechnology, 15–44.
- Gouveia, L., & Oliveira, A. C. 2009.** Microalgae as a raw material for biofuels production. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 36(2), 269–274.

- Griffiths, Melinda J., Garcin, Clive, van Hille, Robert P., & Harrison, Susan T.L. 2011.** Interference by pigment in the estimation of microalgal biomass concentration by optical density. *Journal of Microbiological Methods*, 85(2), 119–123.
- Gueddari, Moncef, Monnin, Christophe, Perret, Dominique, Fritz, Bertrand, & Tardy, Yves. 1983.** Geochemistry of brines of the chott El Jerid in southern Tunisia -Application of Pitzer's equations. *Chemical Geology*, 39(1-2), 165–178.
- GOUPY Jacques, les plans d'expériences, revue MODULAD 2006.**
- Guelcher, Scott Arthur, & Kanel, Jeffrey Scott. 1998** a (July). Method for deep bedfiltration of microalgae. Brevet WO9828404 (A1).
- Hadi, M. R, Shariati, M., & Afsharzadeh, S. 2008.** Microalgal Biotechnology : Carotenoid and Glycerol Production by the Green Algae *Dunaliella* Isolated from the Gave-Khooni Salt Marsh, Iran. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 13(5), 540–544.
- Han, M. Y., Park, Y. H., & Yu, T. J. 2002.** Development of a new method of measuring bubble size. Pages 77–83 of : 2nd World Water Congress : Drinking Water Treatment, vol. 2. London : I W a Publishing. WOS :000176510900010.
- Harvie, Charles E., & Weare, John H. 1980.** The prediction of mineral solubilities in natural waters : the Na-K-Mg-Ca-Cl-SO₄-H₂O system from zero to high concentration at 25 degree Celcius. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44(7), 981–997.
- Harvie, Charles E, MÅyler, Nancy, & Weare, John H. 1984.** The prediction of mineral solubilities in natural waters : The Na-K-Mg-Ca-H-Cl-SO₄-OH-HCO₃-CO₃-CO₂-H₂O system to high ionic strengths at 25ÂrC. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(4), 723–751.
- Heasman, M., Diemar, J., O'Connor, W., Sushames, T., & Foulkes, L. 2000.** Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs - a summary. *Aquaculture Research*, 31(8-9), 637–659.
- Heinanen, J., Jokela, P., & Peltokangas, J. 1992.** Experimental studies on the kinetics of flotation. *Chemical Water and Wastewater Treatment II*, 247–262.
- Hejazi, M A, Holwerda, E, & Wijffels, R H. 2004.** Milking microalga *Dunaliella salina* for beta-carotene production in two-phase bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(5), 475–481. PMID : 14760687.
- Henderson, R., Parsons, S. A, & Jefferson, B. 2008.** The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae. *Water Research*, 42(8-9), 1827–1845
- Henderson, R. K, Parsons, S. A, & Jefferson, B. 2009.** The Potential for Using Bubble Modification Chemicals in Dissolved Air Flotation for Algae Removal. *Separation Science and Technology*, 44(9), 1923–1940.

- Hogg, R. 2000.** Flocculation and dewatering. *International Journal of Mineral Processing*, 58(1-4), 223–236.
- Hosseini Tafreshi, A., & Shariati, M. 2009.** Dunaliella biotechnology : methods and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 107(1), 14–35.
- Hosseini Tafreshi, Ali, & Shariati, Mansour. 2006.** Pilot culture of three strains of *Dunaliella salina* for beta-carotene production in open ponds in the central region of Iran. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 22(9), 1003–1006.
- Huesemann, Michael H., & Benemann, John R. 2009.** Biofuels from Microalgae : Review of Products, Processes and Potential, with Special Focus on *Dunaliella* Sp. Pages 445—474 of : *The alga Dunaliella*.
- Johnson, M. B, & Wen, Z. Y. 2010.** Development of an attached microalgal growth system for biofuel production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(3), 525–534.
- Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales, E. A, Embirucu, M., & Ghirardi, M. L. 2010.** Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresource technology*, 101(4), 1406–1413.
- Kanel, Jeffrey Scott, & Guelcher, Scott Arthur. 1998 (July).** Method for cross flow microfiltration of microalgae in the absence of flocculating agents. Brevet WO9828403 (A1).
- Katz, A., Waridel, P., Shevchenko, A., & Pick, U. 2007.** Salt-induced changes in the plasma membrane proteome of the halotolerant alga *Dunaliella salina* as revealed by blue native gel electrophoresis and nano-LC-MS/MS analysis. *Molecular & Cellular Proteomics*, 6(9), 1459–1472.
- Kleinegris, Dorinde M. M., van Es, Marjon A., Janssen, Marcel, Brandenburg, Willem A., & Wijffels, Rene H. 2011a.** Phase toxicity of dodecane on the microalga *Dunaliella salina*. *Journal of Applied Phycology*, 23(6), 949–958.
- Koopman, B., & Lincoln, E. P. 1983.** Autoflotation harvesting of algae from high-rate pond effluents. *Agricultural Wastes*, 5(4), 231–246.
- Lamers, Packo P., van de Laak, Carlien C.W., Kaasenbrood, Petrouchka S.,n Lorier, Jeroen, Janssen, Marcel, De Vos, Ric C.H., Bino, Raoul J., & Wijffels, RenÅl H. 2010.** Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed *Dunaliella salina*. *Biotechnology and Bioengineering*, 106(4), 638âAS648.
- Lavoie, A., & Delanoue, J. 1987.** Harvesting of *scenedesmus-obliquus* in wastewaters – autoflocculation or bioflocculation. *Biotechnology and Bioengineering*, 30(7), 852–859.
- Lavoie, A., Delanoue, J., & Serodes, J. B. 1984.** Harvesting of microalgae from wastewaters

- comparative-study of different flocculation agents. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 11(2), 266–272.

Lazar, B., Starinsky, A., Katz, A., Sass, E., & Ben-Yaakov, S. 1983. The Carbonate System in Hypersaline Solutions : Alkalinity and CaCO₃ Solubility of Evaporated Seawater. *Limnology and Oceanography*, 28(5), 978–986.

Lee, A. K., Lewis, D. M., & Ashman, P. J. 2009. Microbial flocculation, a potentially low-cost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. *Journal of Applied Phycology*, 21(5), 559–567.

Lee, A. K., Lewis, D. M., & Ashman, P. J. 2010. Energy requirements and economic analysis of a full-scale microbial flocculation system for microalgal harvesting. *Chemical Engineering Research & Design*, 88(8A), 988–996.

Lee, S. J., Kim, S. B., Kim, J. E., Kwon, G. S., Yoon, B. D., & Oh, H. M. 1998. Effects of harvesting method and growth stage on the flocculation of the green alga *Botryococcus braunii*. *Letters in Applied Microbiology*, 27(1), 14–18.

Markham, L., Porter, M., & Schofield, T. 1997. Algae and Zooplankton Removal by Dissolved Air Flotation at Severn Trent Ltd. Surface Water Treatment Works. Pages 112–119 of : *Proceedings CIWEM Dissolved Air Flotation International Conference*, April.

Martin del Campo, Julia S., & Patino, Rodrigo. 2013. Harvesting microalgae cultures with superabsorbent polymers : Desulfurization of *Chlamydomonas reinhardtii* for hydrogen production. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(12), 3227–3234.

Massyuk, N. P. 1965. Effect of Na, Mg, Cl and SO₄ ions on growth, reproduction and carotene production in *Dunaliella salina* Teod. *Ukr Bot*, 22, 3–11.

Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications : A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(1), 217–232.

McLachlan, J. 1960. The culture of *Dunaliella tertiolecta* Butcher-a euryhaline organism. *Canadian Journal of Microbiology*, 6(3), 367–379.

Meier, R. L. 1955. Biological cycles in the transformation of solar energy into useful fuels. Madison University Wisconsin Press.

Melis, A. 2009. Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis : Minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency. *Plant Science*, 177(4), 272–280.

Metting, F. B. 1996. Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 17(5-6), 477–489.

- Millard, R.C., & Seaver, G. 1990.** An index of refraction algorithm for seawater over temperature, pressure, salinity, density, and wavelength. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 37(12), 1909–1926.
- Moheimani, N. R., & Borowitzka, M. A. 2006.** The long-term culture of the coccolithophore *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) in outdoor raceway ponds. *Journal of Applied Phycology*, 18(6), 703–712.
- Mollah, M. Y. A, Morkovsky, P., Gomes, J. A. G, Kesmez, M., Parga, J., & Cocke, D. L. 2004.** Fundamentals, present and future perspectives of electrocoagulation. *Journal of Hazardous Materials*, 114(1-3), 199–210.
- Negoro, Masaaki, Shioji, Norio, Ikuta, Yoshiaki, Makita, Takenori, & Uchiumi, Makoto. 1992.** Growth characteristics of microalgae in high-concentration CO₂ gas, effects of culture medium trace components, and impurities thereon. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 34-35(1), 681–692.
- Oh, H. M, Lee, S. J, Park, M. H, Kim, H. S, Kim, H. C, Yoon, J. H, Kwon, G. S, & Yoon, B. D. 2001.** Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp AM49. *Biotechnology Letters*, 23(15), 1229–1234.
- Oren, A. 1999.** Bioenergetic aspects of halophilism. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(2), 334–348.
- Oren, Aharon. 2005.** A hundred years of *Dunaliella* research : 1905-2005. *Saline Systems*, 1,2.
- Park, Don-Hee, Ruy, Hwa-Won, Lee, Ki-Young, Kang, Choon-Hyoung, Kim, Tae- Ho, & Lee, Hyeon-Yong. 1998.** The Production of Hydrocarbons from Photoautotrophic Growth of *Dunaliella salina* 1650. Pages 739–746 of : Finkelstein, Mark, & Davison, Brian H. (eds), *Biotechnology for Fuels and Chemicals. Applied Biochemistry and Biotechnology*. Humana Press.
- Parkhurst, David L., & Appelo, C.A.J. 2013.** Description of input and examples for PHREEQC Version 3 - A computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculations. *U.S. Geological Survey Techniques and Methods*, 6(A43), 497.
- Parkhurst, David L., Thorstenson, Donald C., & Plummer, L. Niel. 1980.** PHREEQE- A Computer Program for Geochemical Calculations. NTIS, SPRINGFIELD, VA, 1980, 218.
- Petrusevski, B., Bolier, G., Vanbreemen, A. N, & Alaerts, G. J. 1995.** Tangential flow filtration - a method to concentrate fresh-water algae. *Water Research*, 29(5), 1419–1424.

- Petrusevski, B., vanBreemen, A. N, & Alaerts, G. 1996.** Effect of permanganate pretreatment and coagulation with dual coagulants on algae removal in direct filtration. *Journal of Water Supply Research and Technology-Aqua*, 45(6), 316–326.
- Pieterse, A. J. H., & Cloot, A. 1997.** Algal cells and coagulation, flocculation and sedimentation processes. *Water Science and Technology*, 36(4), 111–118.
- Pittman, Jon K., Dean, Andrew P., & Osundeko, Olumayowa. 2011.** The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource Technology*, 102(1), 17–25.
- Pitzer, Kenneth S. 1973.** Thermodynamics of electrolytes. I. Theoretical basis and general equations. *The Journal of Physical Chemistry*, 77(2), 268–277.
- Pitzer, Kenneth S. 1975.** Thermodynamics of electrolytes. V. Effects of higher-order electrostatic terms. *Journal of Solution Chemistry*, 4(3), 249–265.
- Pitzer, Kenneth S., & Kim, Janice J. 1974.** Thermodynamics of electrolytes. IV. Activity and osmotic coefficients for mixed electrolytes. *Journal of the American Chemical Society*, 96(18), 5701–5707.
- Poelman, E., DePauw, N., & Jeurissen, B. 1997.** Potential of electrolytic flocculation for recovery of micro-algae. *Resources Conservation and Recycling*, 19(1), 1–10.
- Pokrovsky, Oleg S., & Schott, Jacques. 2004.** Experimental study of brucite dissolution and precipitation in aqueous solutions : surface speciation and chemical affinity control. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(1), 31–45.
- Polle, J. E. W., Tran, D., & Ben-Amotz, A. 2009.** History, distribution, and habitats of algae of the genus *Dunaliella* Teodoresco (Chlorophyceae). *The Alga Dunaliella : Biodiversity, Physiology, Genomics, and Biotechnology*, 14, 1–14.
- Post, F. J., Borowitzka, L. J, Borowitzka, M. A, Mackay, B., & Moulton, T. 1983.** The protozoa of a western australian hypersaline lagoon. *Hydrobiologia*, 105(SEP), 95–113.
- Pulz, O., & Gross, W. 2004.** Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(6), 635–648.
- Rabbani, Said, Beyer, Peter, Lintig, Johannes v, Hugueney, Philippe, & Kleinig, Hans. 1998.** Induced β -Carotene Synthesis Driven by Triacylglycerol Deposition in the Unicellular Alga *Dunaliella bardawil*. *Plant Physiology*, 116(4), 1239–1248. PMID : 9536040.
- Radaelli, Guido, Fleischer, Daniel, Vick, Bertrand, Caspari, Matthew, Weissman, Joseph, & Rice, David. 2009.** Methods for concentrating microalgae. Brevet US20090162919.

- Raja, R., Hemaiswarya, S., & Rengasamy, R. 2007.** Exploitation of *Dunaliella* for betacarotene production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(3), 517–523.
- Rao, S. D. V. 2009.** Cultivation, growth media, division rates and applications of *Dunaliella* species. India : Science Pubpublishers.
- Rashid, Naim, Rehman, Saif Ur, & Han, Jong-In. 2013a.** Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan. *Process Biochemistry*, 48(7), 1107–1110.
- Rene, Francois, Lemarie, Gilles, Champagne, Jean-Yves, & Morel, Robert. 2008.** Procédé et installation de traitement d'un effluent aqueux, en vue d'en extraire au moins un composé gazeux dissous ; application à l'aquaculture en milieu aqueux recirculé. Brevet FR2914296.
- Rodrigues, R.T., & Rubio, J. 2003.** New basis for measuring the size distribution of bubbles. *Minerals Engineering*, 16(8), 757–765.
- Rosenberg, J. N, Oyler, G. A, Wilkinson, L., & Betenbaugh, M. J. 2008.** A green light for engineered algae : redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(5), 430–436.
- Ruane, Michael. 1976.** Recovery of algae from brine suspensions. Brevet AU486999.
- Sarrot, V., Guiraud, P., & Legendre, D. 2005.** Determination of the collision frequency between bubbles and particles in flotation. *Chemical Engineering Science*, 60(22), 6107–6117.
- Schlesinger, Ami, Eisenstadt, Doron, Einbinder, Shai, & Gressel, Jonathan. 2011 (July).** Method and system for efficient harvesting of microalgae and cyanobacteria. Schlesinger, Ami, Eisenstadt, Doron, Bar-Gil, Amicam, Carmely, Hilla, Einbinder, Shai, & Gressel, Jonathan. 2012. Inexpensive non-toxic flocculation of microalgae contradicts theories ; overcoming a major hurdle to bulk algal production. *Biotechnology Advances*, 30(5), 1023–1030.
- Sheehan, J. 1998.** A look back at the US Department of Energy's Aquatic Species Program : Biodiesel from algae. Vol. 328. National Renewable Energy Laboratory.
- Sialve, B., Bernet, N., & Bernard, O. 2009.** Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology advances*, 27(4), 409–416.
- Sing, Sophie Fon, Isdepsky, Andreas, Borowitzka, Michael A., & Moheimani, Navid Reza. 2013.** Production of biofuels from microalgae. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 18(1), 47–72.

- Sirin, Sema, Trobajo, Rosa, Ibanez, Carles, & Salvado, Joan. 2012.** Harvesting the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* with polyaluminium chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation. *Journal of Applied Phycology*, 24(5), 1067–1080.
- Stander, G. J., & Van Vuuren, L. R. J. 1969.** The reclamation of potable water from wastewater. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 41(3), 355–367.
- Sukenik, A., Bilanovic, D., & Shelef, G. 1988.** Flocculation of microalgae in brackish and sea waters. *Biomass*, 15(3), 187–199.
- Takagi, M., Karseno, & Yoshida, T. 2006.** Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(3), 223–226.
- Teixeira, M. R, & Rosa, M. J. 2006.** Comparing dissolved air flotation and conventional sedimentation to remove cyanobacterial cells of *Microcystis aeruginosa* Part 1 : The key operating conditions. *Separation and Purification Technology*, 52(1), 84–94.
- Vandanjon, L., Rossignol, N., Jaouen, P., Robert, J. M., & Quemeneur, F. 1999.** Effects of shear on two microalgae species. Contribution of pumps and valves in tangential flow filtration systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 63(1), 1–9.
- Viecelli, J. A. 1984.** Analysis of a relationship between the vertical distribution of inorganic carbon and biological productivity in the oceans. *Journal of Geophysical Research : Oceans*, 89(C5), 8194–8196.
- Wang, Zhaowei, Hou, Jing, Bowden, Dustin, & Belovich, Joanne M. 2013.** Evaluation of an Inclined Gravity Settler for Microalgae Harvesting. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, In press.
- Wayne, R., Kadota, A., Watanabe, M., & Furuya, M. 1991.** Photomovement in *Dunaliella salina* : fluence rate-response curves and action spectra. *Planta*, 184(4), 515–524.
- Yahi, H., Elmaleh, S., & Coma, J. 1994.** Algal flocculation-sedimentation by pH increase in a continuous reactor. *Water Science and Technology*, 30(8), 259–267.
- Zhang, G. M, Zhang, P. Y, & Fan, M. H. 2009.** Ultrasound-enhanced coagulation for *Microcystis aeruginosa* removal. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(3), 334–338.
- Zimmerman, William B., Zandi, Mohammad, Hemaka Bandulasena, H.C., Tesar, Vaclav, James Gilmour, D., & Ying, Kezhen. 2011.** Design of an airlift loop bioreactor and pilot scales studies with fluidic oscillator induced microbubbles for growth of a microalgae *Dunaliella salina*. *Applied Energy*, 88(10), 3357–3369.

Biblio-net

- **Webmaster 1:** http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sebkha_arzew.jpg (consulté le: 26-04-2013).

- **Webmaster 2:** http://www.aquaportail.com/fiche-algue-2931-dunaliella_salina.html (consulté le: 15-01-2013).

- **Webmaster 3:** <http://www.ramsar.org/> (consulté le: 21-04-2013).

- **Webmaster 4:**

http://www.wunderground.com/history/airport/DAOO/2013/4/17/DailyHistory.html?req_city=NA&req_state=NA&req_statename=NA (consulté le: 07/06/2013).

ANNEXE I

**Les sites d'Algérie inscrits sur la Liste de la convention de Ramsar des zones humides
d'importance internationale entre 1982 et 2006.**

Nom de la zone humide	Année d'inscription	Superficie (ha)	Type de zone humide	Wilaya	Critères Ramsar d'inscription
1-Lac Tonga	1982	2.700	Lac d'eau douce côtier, marais et aulnaie	El Tarf, commune de Oum Tboul, Parc National d'El kala	5 critères sur 8 (1, 2, 3, 5, et 6).
2-Lac Oubeïra	1982	2.200	Lac d'eau douce côtier. Végétation périphérique	El Tarf, commune d'El Frine, Parc National d'El kala	3 critères sur 8 (1, 5 et 6).
3-Le lac des oiseaux	1999	170	Lac d'eau douce côtier. Végétation en périphérie	El Tarf, commune du lac des oiseaux	2 critères sur 8 (3, et 6).
4-Chott Ech Chergui	2001	855.500	Chott salé, continental saumâtre et d'eau douce. Forêt humide de Tamarix	Wilaya de Saïda, Nâama, El Bayadh	3 critères sur 8 (1, 2, et 4).
5-Guerbes	2001	42.100	Plaine d'inondation côtière, lacs d'eau douce et saumâtres, marais, aulnaie.	Wilaya de Skikda	5 critères sur 8 (1, 2, 3, 6, et 8).
6-Chott El Hodna	2001	362.000	Chott et sebkha continentaux, sources d'eau douce	Wilaya de M'Sila et Batna	4 critères sur 8 (1, 2, 3 et 7).
7-Valée d'Iherir	2001	6.500	Gueltates d'eau douce continentales sahariennes	Wilaya de Illizi	4 critères sur 8 (1, 2, 3 et 4).
8-Gueltates d'issikarassene	2001	35.100	Gueltates d'eau douce continentales sahariennes	Wilaya de Tamanrasset	4 critères sur 8 (1, 2, 3 et 7).
9-Chott Merouane et Oued Khrouf	2001	337.700	Chott continental alimenté d'eau de drainage et oued	Wilaya d'El Oued et de Biskra	2 critères sur 8 (5 et 6).
10-Marais de la Macta	2001	44.500	Marais côtier et Oued	Wilaya de Mascara, Oran et	3 critères sur 8 (1, 3 et 5).

ANNEXE I

				Mostaganem	
11-Oasis de Ouled Saïd	2001	25.400	Oasis et foggara	Wilaya de Adrar Commune de Ouled Saïd	1 critère sur 8 (1).
12-Sebkha d'Oran	2001	56.870	Sebkha ou lac salé continental	Wilaya d'Oran	1 critère sur 8 (6).
13-Oasis de Tamentit et Sid Ahmed Timmi	2001	95.700	Oasis et foggara	Wilaya de Adrar Commune de Tamentit	1 critère sur 8 (3).
14-Oasis de Moghrar et Tiout	2002	195.500	Oasis et foggara	Wilaya de Nâama	2 critères sur 8 (1 et 3).
15-Zehrez Chergui	2002	50.985	Chott et sebkha continentaux	Wilaya de Djelfa	2 critères sur 8 (1 et 2).
16-Zehrez Gharbi	2002	52.500	Chott et sebkha continentaux	Wilaya de Djelfa	2 critères sur 8 (1 et 2).
17-Gueltates d'Affilal	2002	20.900	Gueltates d'eau douce continentales sahariennes	Wilaya de Tamanrasset	2 critères sur 8 (1 et 2).
18-Grotte de Ghar Boumâaza	2002	20.000	Grotte karstique continentale et oued	Wilaya de Tlemcen	1 critères sur 8 (1).
19-Marais de la Mekhada	2002	8.900	Marais d'eaux douces et saumâtres	Wilaya d'El Tarf	4 critères sur 8 (1, 4, 5 et 6)
20-Chott Melghir	2002	551.500	Chott et Sekha salés continentaux	Wilaya d'El Oued et de Biskra	2 critères sur 8 (1 et 2).
21-Lac de Réghaïa	2002	842	Lac, marais et oued côtiers	Wilaya d'Alger Communes de Réghaïa et Heraoua	3 critères sur 8 (1, 2 et 3)
22-Lac Noir	2002	5	Tourbière morte	Wilaya d'El Tarf, Commune de, Parc National d'El Kala	1 critère sur 8 (1).
23-Aulnaies de	2002	170	Aulnaie et oued d'eau douce	Wilaya d'El Tarf, Commune de Aïn	1 critère sur 8 (1).

ANNEXE I

Aïn Khiar				Khlar, Parc National d'El Kala	
24-Lac de Béni Bélaïd	2002	600	Lac, marais, aulnaie et oued côtiers d'eau douce	Wilaya de Jijel	3 critères sur 8 (1, 2 et 2)
25-Cirque de Aïn Ouarka	2002	2.350	Lacs et sources d'eaux chaudes et froide, cirque géologique	Wilaya de Nâama	1 critère sur 8 (1).
26-Lac de Fetzara	2002	20.680	Lac d'eau douce	Wilaya de Annaba	3 critères sur 8 (1, 5 et 6)
27- Sebket El Hamiet	2006	2 509	Lac salé saisonnier	Sétif	1 critère sur 8 (6)
28-Sebket Bazer	2006	4 379	Lac salé permanent	Sétif	1 critère sur 8 (6)
29-Chott El Beïdha-Hammam Essoukhna	2006	12 223	Lac salé saisonnier, prairie humide	Sétif	1 critère sur 8 (6)
30-Garaet Annk Djemel-El Merhssel	2006	18 140	Lac salé saisonnier	Oum el Bouaghi	1 critère sur 8 (6)
31-Garaet Guellif	2006	24 000	Lac salé saisonnier	Oum el Bouaghi	1 critère sur 8 (6)
32-Chott Tinsilt	2006	2 154	Chott et sebkha	Oum el Bouaghi	1 critère sur 8 (6)
33-Garaet El Taref	2006	33 460	Lac salé permanent	Oum el Bouaghi	1 critère sur 8 (6)
34- Dayet El Ferd	2006	3 323	Lac saumâtre permanent	Tlemcen	3 critères sur 8 (1,5 et 6)
35-Oglat Edaira	2006	23 430	Lac saumâtre	Naama	3 critères sur 8 (1,3 et 6)
36-Les Salines d'Arzew	2006	5 778	Lac salé saisonnier	Oran	2 critères sur 8 (1 et 6)
37-Le lac de Tellamine	2006	2 399	Lac salé saisonnier	Oran	2 critères sur 8 (1 et 6)

ANNEXE I

38-Le Lac Mellah	2006	2 257	Lac d'eau saumâtre	El Tarf	3 critères sur 8 (1, 6 et 8)
39-Sebkhet El Meleh (Lac d'El Goléa)	2006	18 947	Lac salé	Ghardaia	3 critères sur 8 (3,4 et 6)
40-Chott Oum Raneb	2006	7 155	Lac salé	Ouargla	2 critères sur 8 (3 et 6)
41-Chott Sidi Slimane	2006	616	Lac saumâtre permanent	Ouargla	2 critères sur 8 (1 et 6)
42-Chott Ain El Beïda	2006	6 853	Lac salé	Ouargla	1 critère (6)
Superficie Totale (ha)	2958 704				

(DGF, 2007).

ANNEXE II

Système Ramsar de classification des types de zones humides

Les codes correspondent au **Système de classification des types de zones humides** Ramsar approuvé par la Recommandation 4.7 et amendé par les Résolutions VI.5 et VII.11 de la Conférence des Parties contractantes. Les catégories qui figurent ci-après sont destinées à fournir un cadre très large pour permettre une identification rapide des principaux habitats de zones humides représentés dans chaque site.

Zones humides marines/côtières

- A -- Eaux marines peu profondes et permanentes**, dans la plupart des cas d'une profondeur inférieure à six mètres à marée basse ; y compris baies marines et détroits.
- B -- Lits marins aquatiques subtidaux** ; y compris lits de varech, herbiers marins, prairies marines tropicales.
- C -- Récifs coralliens.**
- D -- Rivages marins rocheux** ; y compris îles rocheuses, falaises marines.
- E -- Rivages de sable fin, grossier ou de galets** ; y compris bancs et langues de sable, îlots sableux, systèmes dunaires et dépressions intradunales humides.
- F -- Eaux d'estuaires** ; eaux permanentes des estuaires et systèmes deltaïques estuariens.
- G -- Vasières, bancs de sable ou de terre salée intertidaux.**
- H -- Marais intertidaux** ; y compris prés salés, schorres, marais salés levés, marais cotidaux saumâtres et d'eau douce.
- I -- Zones humides boisées intertidales** ; y compris marécages à mangroves, marécages à palmiers nipa et forêts marécageuses cotidales d'eau douce.
- J -- Lagunes côtières saumâtres/salées** ; y compris lagunes saumâtres à salées reliées à la mer par un chenal relativement étroit au moins.
- K -- Lagunes côtières d'eau douce** ; y compris lagunes deltaïques d'eau douce.
- Zk(a) – Systèmes karstiques et autres systèmes hydrologiques souterrains, marins/côtiers.**

Zones humides continentales

L -- Deltas intérieurs permanents.

M -- Rivières/cours d'eau/ruisseaux permanents ; y compris cascades.

N -- Rivières/cours d'eau/ruisseaux saisonniers/intermittents/irréguliers.

O -- Lacs d'eau douce permanents (plus de 8 hectares) ; y compris grands lacs de méandres.

P -- Lacs d'eau douce saisonniers/intermittents (plus de 8 hectares ; y compris lacs des plaines d'inondation).

Q -- Lacs salés/saumâtres/alcalins permanents.

R -- Lacs salés et étendues/saumâtres/alcalins saisonniers/intermittents.

Sp -- Mares/marais salins/saumâtres/alcalins permanents.

Ss -- Mares/marais salins/saumâtres/alcalins saisonniers/intermittents.

Tp -- Mares/marais d'eau douce permanents ; étangs (moins de 8 hectares), marais et marécages sur sols inorganiques ; avec végétation émergente détremmée durant la majeure partie de la saison de croissance au moins.

Ts -- Mares/marais d'eau douce saisonniers/intermittents sur sols inorganiques ; y compris fondrières, marmites torrentielles, prairies inondées saisonnièrement, marais à laïches.

U -- Tourbières non boisées ; y compris tourbières ouvertes ou couvertes de buissons, marécages, fagnes.

Va -- Zones humides alpines ; y compris prairies alpines, eaux temporaires de la fonte des neiges.

Vt -- Zones humides de toundra ; y compris mares de la toundra, eaux temporaires de la fonte des neiges.

W -- Zones humides dominées par des buissons ; marécages à buissons, marécages d'eau douce dominés par des buissons, saulaies, aulnaies ; sur sols inorganiques.

Xf -- Zones humides d'eau douce dominées par des arbres ; y compris forêts marécageuses d'eau douce, forêts saisonnièrement inondées, marais boisés ; sur sols inorganiques.

Xp -- Tourbières boisées ; forêts marécageuses sur tourbière.

Y -- Sources d'eau douce ; oasis.

Zg -- Zones humides géothermiques.

Zk(b) -- Systèmes karstiques et autres systèmes hydrologiques souterrains,

continentaux.

Note : « **plaine d'inondation** » est un terme général qui fait référence à un type de zone humide ou plus pouvant comprendre des exemples de R, Ss, Ts, W, Xf, Xp, entre autres. Certaines zones humides de plaines d'inondation sont des prairies saisonnièrement inondées (y compris des prairies naturelles humides), des zones broussailleuses, des zones boisées et des forêts. Les zones humides de plaines d'inondation ne figurent pas ici comme type spécifique de zone humide.

Zones humides « artificielles »

- 1 -- Étangs d'aquaculture** (p. ex. poissons, crevettes).
- 2 -- Étangs** ; y compris étangs agricoles, étangs pour le bétail, petits réservoirs ; (généralement moins de 8 hectares).
- 3 -- Terres irriguées** ; y compris canaux d'irrigation et rizières.
- 4 -- Terres agricoles saisonnièrement inondées.**
- 5 -- Sites d'exploitation du sel** ; marais salants, salines, etc.
- 6 -- Zones de stockage de l'eau** ; réservoirs/barrages/retenues de barrages/retenues d'eau ; (généralement plus de 8 hectares).
- 7 -- Excavations** ; gravières/ballastières/glaisières ; sablières, puits de mine.
- 8 -- Sites de traitement des eaux usées** ; y compris champs d'épandage, étangs de sédimentation, bassins d'oxydation, etc.
- 9 -- Canaux et fossés de drainage, rigoles.**

ZK(c) Systèmes karstiques et autres systèmes hydrologiques souterrains, artificiels

ANNEXE III

Article 2.2

Le choix des zones humides à inscrire sur la Liste devrait être fondé sur leur importance internationale au point de vue écologique, botanique, zoologique, limnologique ou hydrologique. Devraient être inscrites, en premier lieu, les zones humides ayant une importance internationale pour les oiseaux en quelque saison que ce soit (**Manuel de la convention de Ramsar, 2013**).

ANNEXE IV

Critères d'identification des zones humides d'importance internationales.

<p>Groupe A des critères Sites contenant des types de zones humides représentatifs, rares ou uniques.</p>		<p>Critère1 : Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle contient un exemple représentatif, rare ou unique de type de zone humide naturelle ou quasi naturelle de la région biogéographie concernée.</p>
<p>Groupe B des critères Site d'importance internationale pour la conservation de la diversité biologique.</p>	<p>Critère tenant compte des espèces ou des communautés écologiques.</p>	<p>Critère2 : Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite des espèces vulnérables, menacées d'extinction 'ou gravement menacées d'extinction' ou des communautés écologiques menacées.</p>
		<p>Critère3: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite des populations d'espèces végétales et /ou animales importantes pour le maintien de la diversité biologique d'une région biogéographique particulière</p>
		<p>Critère4: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite des populations d'espèces végétales et /ou animales à un stade critique de leur cycle de vie ou si elle sert de refuge dans des conditions difficiles.</p>
	<p>Critères spécifiques tenant compte des oiseaux d'eau.</p>	<p>Critère5: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite, habituellement, 20 000 oiseaux d'eau ou plus.</p>
	<p>Critère 6: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite, habituellement, 1% des individus d'une population d'une espèce ou sous-espèce d'oiseau d'eau.</p>	

ANNEXE IV

	Critères spécifiques tenant compte des oiseaux d'eau.	<p>Critère7: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite une proportion importante de sous-espèce ou familles de poissons indigène, d'individus à différents stades du cycle de vie, d'interactions interspécifiques et/ou des valeurs des zones humides et contribue ainsi à la diversité biologique mondiale.</p>
		<p>Critère8: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle sert de source d'alimentation importante pour les poissons, de frayère, de zone d'alevinage et/ou de voie de migration dont dépendent des stocks de poissons se trouvant dans la zone humide ou ailleurs.</p>
	Critères spécifiques tenant compte des oiseaux d'autres taxons.	<p>Critère9: Une zone humide devrait être considérée comme un site d'importance internationale si elle abrite régulièrement 1% des individus d'une population d'une espèce ou sous espèce animale dépendant des zones humides mais n'appartenant pas l'avifaune.</p>

(Manuel de la convention de Ramsar, 2013).